JAN 13 1953

LIBRARY
FISH & WILDLIFE SERVICE
PACIFIC OCEANIC FISHERY
INVESTIGATIONS

北海道大學
水產學部研究彙報

第三卷　第二號

BULLETIN
OF THE
FACULTY OF FISHERIES
HOKKAIDO UNIVERSITY

VOL. 3, NO. 2

北海道大學水產學部（函館）發行

HAKODATE, JAPAN.

August, 1952

目　　次

海藻の酸醱酵に關する研究
（第3報）化生酸の分別定量法並びに實驗の確からしさに就いて
……鈴　木　　昇（114）
（第4報）各種海藻の酸醱酵に就いて……鈴　木　　昇（118）

海洋底質の化學的研究
第6報　淺海底土に含まれている海底腐植の有機成分について
……加　藤　健　司（121）

魚肉研究法の基礎的檢討
2. 魚肉腐敗研究法の一考察（サメ肉の使用について）
……村田喜一・大石圭一（128）

軟体動物特にイカ、タコの食中毒に關する研究
第1報　イカ、タコ肉の鮮度低下による化學變化と鮮度鑑定試驗について
……元廣輝重・谷川英一（142）
第2報　イカ肉腐敗過程中に於けるアミン類の消長について
……元廣輝重・谷川英一（154）

噴火灣に於ける定置網の研究（豫報）
主として急潮に依る漁網の被害について
……川崎毅一・西山作藏・中村秀男（175）

海藻の酸醱酵に關する研究（第3報）

化生酸の分別定量法並びに實驗の確からしさに就て

鈴　木　　昇（無機化學、海藻化學教室）

STUDIES ON THE ACID-PRODUCING FERMENTATION OF SEAWEEDS.

Ⅲ. DETERMINATION OF THE ACIDS AND ACCURACY OF THE EXPERIMENT.

Noboru SUZUKI

(Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

1) Three methods of determinating volatile organic acids[3,4,5] are compared. Although satisfactory results are obtained through each method, Virtanen and Puli's is chosen because of the ease in carrying it out.

2) It is proved that four parallel experiments are required at least through the statistical examination.

Ⅰ. 化生酸の分別定量法に就て

海藻の酸醱酵によつて生ずる酸は主として醋酸及びプロピオン酸であるが、前報[1,2]に於ては之を醋酸として計算した。本報に於ては是等を分別定量せんとして本實驗を行つた。

揮發性有機酸の混合して共存する水溶液から、是等の各々を定量するのには、主として分劃蒸溜法が廣く用いられている。海藻の酸醱酵によつて生ずる酸は主として醋酸及びプロピオン酸であつて、度々の試驗にも拘らず、ニトロプロシツドナトリウムによるアセト醋酸の呈色反應は認められず、從つて醋酸の存在は認められなかつた。

混合揮發性有機酸水溶液中に於ける各々の有機酸の定量に就ては、古くは Duclaux[3] の方法があるが、此の方法では近似値が得られるに過ぎない。Gillespie 及び Walters[4] は Duclaux の方法に從つて蒸溜を行い、その各區分の滴定數から數種の酸の混合物の中の各々の酸の定量を行う方法を報告している。之に對して Virtanen 及び Puli[5] は2種の有機酸の混合している場合は2段蒸溜を、3種混合している場合には3段蒸溜を行う方法を報告している。

元來醋酸やプロピオン酸の如き低級の揮發性脂肪酸は、その性質が近似しているため、是等が共存している場合に於ては、混合水溶液中から是等を個々にとり出す事は困難であつて、普通には a) 分別蒸溜法、b) 塩類の分別沈澱法、c) 塩類からの分別遊離法、d) 塩類の分別結晶法、e) バリウム塩のアルコールによる分別抽出法等が用いられているが、熟れも之を定量法に用いて正確な値を得る事は困難である。

以上の方法に對して、前記の Duclaux, Gillespie 等及び Virtanen 等の方法は間接法ではあるが、比較的正確で且つ操作も簡單であるため便利である。依て著者は以上の3つの方法に對して檢討を加えた。

Duclaux の方法は、水溶性の揮發性有機酸の稀薄溶液を蒸溜する時は一定の法則に從つて溜出せられる事實に基いて、是等の溶液を 110c.c. とつて之を蒸溜し、其の溜液を 10c.c. 毎に區分して100c.c.を蒸溜し、其の各 10c.c. 中に含まれている酸量をアルカリで滴定し、夫れと溜液100c.c. 中に含まれている全滴定數との百分率を求め、之を圖上に表すと夫々の酸によつて特有の曲線が得られる。此の場合2種以上の混酸の場合は稍々複雜となるが、熟練すると近似値を得る事が出來る。之に對して Gillespie 等は、混酸の場分に於ても Duclaux の方法に從つて蒸溜した場合に、その中の個々の酸は夫れが唯一種の場合と全く同じ割合で溜出せられるという原理に基いて方程式をたてゝ計算する方法を報告している。從つて此の方法は Duclaux の方法の計算法とも稱すべきものであつて、詳細なる基礎實驗を行い、且つ、グラフによる計算法をも述べている。

Table 1.

Fraction c.c.	Duclaux	Gillespie etc.	Author
10	7.4	8.0	7.7
20	15.2	16.3	15.7
30	23.4	24.6	23.9
40	32.0	33.5	32.4
50	40.9	42.7	41.5
60	50.5	52.1	51.1
70	60.9	62.4	61.6
80	71.9	73.4	72.6
90	84.4	85.7	85.2
100	100.0	100.0	100.0

Table 2.

Method of / Acid	Duclaux	Gillespie etc.	Virtanen etc.	Theoretical value
a	40	36.3	34.9	34.9
p	60	63.7	65.1	65.1
a	50	48.8	52.1	51.8
p	50	51.2	47.9	48.2
a	75	75.1	70.1	74.4
p	25	24.9	29.9	25.6
a	64	60.0	54.3	55.5
p	36	40.0	45.7	44.5

Where: "a" presents percentage of acetic acid, "p" presents percentage of propionic acid.

Table 3.

Method of / Acid	Duclaux	Gillespie etc.	Virtanen etc.
a	50	50.1	54.1
p	50	49.9	45.9
a	75	73.3	73.4
p	25	26.7	26.6
a	55	53.4	54.0
p	45	46.6	46.0

Virtanen 等の方法は先に述べた如く、2段或は3段の蒸溜を行うものであつて、2つの揮發性有機酸の水溶液中の各々の酸を定量せんとする場合には、混液 400c.c. をとり、その中の 10～20c.c. を用いて總揮發酸を滴定し、次にその中の 200c.c. をとつて、之を 100c.c. 蒸溜し、溜液中の揮發酸の量を滴定し、その兩者の値から、彼等の實驗によつて得られた式に基いて、成分である 2 つの酸の量を算出する。同樣にして 3 種の混酸の場合は 3 段蒸溜を行うが詳細は省略する。

著者はメルク製の醋酸及びプロピオン酸を試料として上記三法を比較した。此の場合 Gillespie 等によれば、Duclaux 及び Gillespie 等の方法は、裝置の異るに從つて、幾分溜出する割合の異る事を指摘して、各實驗者は各自の裝置及び條件を定め、之に對して各自の數値を得て、之を基礎として實驗する必要のある事を述べている。著者は、著者の實驗による數値を基準とする事としたが、此の場合數値には第 1 表に見られる通り、僅少ではあるが實驗者による差異が認められる。

尙 Virtanen 等の方法は彼等の式をその儘用いる事とした。以上 3 つの方法を比較した結果は第2表に示す通りである。第 2 表によつて見れば、是等 3 つの方法は熟れも、大體に於て近似的な値が得られるが、Duclaux の方法が理論値に對して最も開きが多い樣である。

次に海藻の酸醱酵液を H_3PO_4 酸性下で蒸溜した溜液を用いて是等 3 法を比較した結果の數

Table 4.

No.	$\bar{x}$	s	t
1	2.58	0.354	16.156
2	4.69	0.201	52.353
3	4.71	0.390	20.011
4	7.11	0.776	20.484
5	6.90	0.447	34.513
6	8.17	0.293	62.283
7	9.69	0.699	30.951
8	5.54	1.749	7.084
9	6.61	0.888	16.650
10	7.50	1.073	15.530
11	9.78	0.800	27.335
12	6.61	1.943	7.606
13	12.05	0.471	57.221
14	6.68	0.215	71.719
15	5.89	1.176	11.223
16	6.98	0.420	37.204
17	4.26	1.406	6.776
18	5.94	0.363	36.338
19	5.34	1.576	7.715
20	8.39	0.581	32.252

Table 5.

No.	$\bar{x}$	s	t
1	2.61	0.345	13.102
2	4.78	0.185	44.751
3	4.79	0.410	20.235
4	7.11	0.699	17.617
5	6.71	0.205	56.691
6	8.29	0.294	42.947
7	9.19	0.360	39.403
8	6.51	0.690	66.325
9	6.18	0.170	62.964
10	6.97	0.765	15.780
11	10.08	1.049	16.669
12	7.65	1.405	9.450
13	11.95	0.323	64.079
14	6.95	0.204	59.007
15	6.49	1.380	8.145
16	4.00	1.131	5.020
17	5.05	1.209	7.235
18	6.01	0.347	29.998
19	5.46	0.998	9.476
20	8.47	0.495	29.838

例を示すと第3表の如くである。

第3表に見られる如く是等の方法は、熟れも夫々近似的な値が得られるので何れの方法を用いても差支えない事が判るが、Virtanen の方法が最も簡單で便利な方法であると考えられる。

Table 6.

No.	$\bar{x}$	s	t
1	2.64	0.415	8.99
2	4.62	0.214	30.53
3	5.05	0.173	41.31
4	7.29	0.780	13.22
5	7.19	0.660	18.56
6	8.05	0.208	54.72
7	9.73	0.625	66.72
8	5.84	2.608	3.15
9	6.67	1.300	7.25
10	7.05	1.111	8.97
11	9.56	1.164	11.61
12	6.91	2.486	3.93
13	12.46	0.501	35.17
14	6.91	0.325	30.06
15	4.93	0.415	16.56
16	4.71	1.897	3.51
17	3.91	1.663	3.32
18	6.07	0.427	20.10
19	5.48	1.518	5.10
20	8.66	0.380	32.22

Ⅱ. 實驗の確からしさに就て

海藻の自然醱酵を研究するに當つては、定量法以外に實驗の度に未知の各種條件に支配せられるため、出來る丈實驗の條件を一定にしてもその實驗の結果には往々相當の開きが見られる。從つて出來得る限り數多くの實驗を繰り返して、その結果を統計學的に平均する事が望ましい事はいうまでもない。著者はフシスヂモクに就て、同じ條件に就ては夫々獨立に6回宛の實驗を繰り返し、種々の條件で75組此の實驗を行つて、その結果を推計學的に檢討した。今此の75組の實驗結果より無作爲抽出を行つて得られた20組の各數値は第4表に示す通りである。玆には $\bar{x}$ は醋酸として計算せられた總化生酸量の平均値、s は標準偏差、t は t 分布の値を示すものである。$t_{0.01}$ は 4.032 であるから、第4表に示す値は有意水準0.99に於て凡て有意である。此の結果から、有意水準0.99に於て有意でない結果の期待される百分率の推定を行うに、信賴度 98% に於て 0～0.23 である事が判つた。

次に第4表に用いた測定値の中から各組毎に4ヶ宛の測定値を無作爲抽出によつて取り出して第4表と同樣 $\bar{x}$、s 及び t を求めた結果は第5表に示す通りである。此の場合 $t_{0.02}$ は 4.541 であるから第5表に示す値は有意水準0.98 に於て凡て有意である。從つて信賴度 98% に於て有意水準0.98 として有意といわれない値の期待せられる百分率は 0～0.23 と推定せられる。

次に上の場合と同樣にして各組から夫々3ヶ宛の測定値を無作爲抽出によつて取り出した3ヶの測定値から得られた $\bar{x}$、s 及び t は第6表に示す通りである。第6表に示されている値につい

て $t_{0.05}$ は 4.303 であるから有意水準 0.95 に於て 20 回の觀測の中 4 回は、その平均値が有意といわれない事を示している。此の結果から、有意水準 0.95 に於て有意でない結果の期待せられる百分率の推定を行うに、信賴度 98% に於て、0.07～0.45 である事が判つた。

以上の結果を總括すると次の通りである。即ち、海藻の醱酵による化生酸の定量に於て、著者の行つた方法[1] を用い定量する場合（此の定量法自身に就ては推計學的に檢定は行われていない）實驗の結果の有意水準を 0.95 とした場合に於ても 1 組の實驗を獨立に行つた 3 回の平均値は信賴度 98% とした場合 0.07～0.45 有意でない場合が考へられるので少く共 4 回以上の獨立した實驗の結果を平均する事が望ましいという事が判る。

文　　献

(1) 鈴木　昇 (1945)：日水誌, 11, (5～6), 192.
(2) 同　　上 (1945)：同　上, 12, (1), 12.
(3) Duclaux (1874)：Ann. Chim. Phys. 〔5〕 2, 289, "Traite de Microbiologie' (1900) 3, 385 邦譯より引用.
(4) Gillespie and Walters (1919)：J. Am. Chem. Soc., 39, 2027.
(5) Virtanen and Puli (1928)：J. Am. Chem. Soc., 50, 3138.

（水產科學研究所業績　第 114 號）

海藻の酸醱酵に關する研究（第4報）

各種海藻の酸醱酵に就て

鈴　木　昇　（無機化學、海藻化學教室）

STUDIES ON THE ACID-PRODUCING FERMENTATION OF SEAWEEDS.

IV. THE FERMENTATIONS OF VARIOUS SEAWEEDS.

Noboru SUZUKI

(Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

A number of acid-producing fermentation experiments with various seaweeds were made and following results were obtained.

1) A greater amount of acid is produced in *Laminariaceae* than in *Fucaceae*.

2) The fermentation seems to be divided into two types. One is a vigorous fermentation where a greater amount of propionic acid is produced, while the other is feeble fermentation where less amount of that acid is produced.

3) It seems that the fermentation is not brought about by mannit, but by algin, protein and by the softness of the seaweeds.

4) The degree of softness of the seaweeds is represented by the amount of swelled water on the preliminary treatment in boiling water. Relation between swelled water (x) and produced acid (y) is given as following equation:

$$y=0.032x-4.11$$

著者は第1乃至第3報[1,2,3]に於て海藻の酸醱酵に關する基礎的事項に就て報告したのであるが、本報に於ては海藻の種類、成育時期及び海藻成分との酸醱酵と關係に就て報告する。本研究の費用はその一部を文部省科學研究費に仰いだ。茲に記して深謝の意を表する。尙實驗に助力せられた羽賀勝子、後藤和子兩君にも併せて謝意を表する。

Ⅰ. 驗　方　法

試料は凡て褐藻類の化學成分に關する研究[4]に用いたものと同樣である。本報告中の海藻の番號は凡て該報告中の番號と同じであるから、各海藻の成分、採取場所及び時期等に關しては該報告を參照せられたい。

定量法は細切した風乾試料20gを500c.c.容三角フラスコにとり、之に熱湯400c.c.を加え、沸騰せる重湯煎上に於て30分間處理して可溶成分を除くと共に膨潤せしめられた藻體に、此の際吸收せられた水分を加算して200c.c.の水道水を加え更に200c.c.の海水、2gの $CaCO_3$ 及び種醱（同海藻同番號の海藻の醱酵液）10c.c.とを加えて9～30°Cに於て醱酵せしめ、此の中より定量時に10c.c.宛をとつて化生酸量を定量し、之を醋酸として元の風乾海藻に對する百分比を以て表す事とした。本實驗は繰り返し5回行つた。此の中第1回及び第2回は10～15°Cに於て

第3回は 9～14°C に於て、第4回及び第5回は 30°C に於て醱酵せしめた。

Ⅱ. 實驗結果及び考察

實驗結果は第 1 回を第 1 表に、第 2 回以下は夫々第2乃至第5表に示す通りである。表中 Swelled Water とは前處理を行つた場合に藻體に吸收せられた水分量（g數）を以て表している。

1) 海藻の種類と醱酵との關係

上に述べた醱酵は、後に記す様に色々な因子によつて左右せられるので簡單にいう事は出來ないが、海藻の種類によつて化生酸量に相當の差異が認められる。即ち昆布科海藻は一般にヒバマタ科のものに比べて化生酸量が大であるが、ヒバマタ科にあつてもエゾイシゲは非常に醱酵が旺盛である。昆布科の中でもミツイシコンブが最も醱酵旺盛であり、マコンブ、リシリコンブ及びチガイソ等が之に次ぎホソメコンブは稍劣る様である。

2) 醱酵の型に就て

酸の化生量の曲線を描いてみると一般に二つの型が見られる。その一は、醱酵の旺盛なものゝとる型であつて、殊に 30°C に於て醱酵せしめた場合に多く見られる。即ち醱酵日數の經過と共に急激に酸の化生量も增加し、一定日數を經過してその最大量に達すると直ちに化生酸量の減少を見る型のものである。此の型にあつては酸の化生量が最大量に達すると共に硫化水素を發生し易いものである。又後に別報として報告するが此の型に屬するものにあつては、第二の型に屬するものに比較するとプロピオン酸の化生する割合が多いのも一つの特色である。第二の型に屬するものは、多くのヒバマタ科の醱酵に於て見られるものであつて、酸の化生は極めて緩徐であつて、化生酸量は少いが、長時日醱酵せしめても化生酸の減少は明かでなく、又硫化水素の發生する事も少く化生する酸は殆ど醋酸のみである。

3) 醱 酵 溫 度

醱酵溫度は 9～15°C の場合と 30°C の場合に就て見るに、30°C の方が醱酵旺盛であり、且つ化生酸量も多く、醱酵期間も短くて化生酸量の最大量に達するが、その反面硫化水素の發生を見る事が早い。

4) 醱 酵 期 間

醱酵の旺盛なものは一般に短時日で最高化生酸量に達し、コンブ科のものでは 9～15°C では 15～20 日、30°C では 7～14 日位で最高化生酸量を示すに至るが、醱酵緩徐なヒバマタ科のものにあつては斯る明瞭な最高點は見られないが、9～15°C では約 20 日、30°C では約 15 日位で大凡その最高化生酸量に達するものと思われる。

5) 海藻成分と醱酵との關係

嚢に[1,2] 斯る醱酵には海藻成分中のマンニットには殆ど關係がなく、主として醱酵に與るものはアルギン酸であると思われる事を指摘したが、實際に各試料の成分[4] と醱酵との關係を見るに、マンニットの含有量とは余り關係がなく（マンニットは前處理によつて大部分抽出せられている）アルギン酸及び粗蛋白質の含有量並びに、分析表には現れていないが、藻體の軟かさの三者に關係があるものゝ如くである。例えば、ホソメコンブは多量のアルギン酸を含有するにも拘らず比較的蛋白質に乏しく、且つ藻體の硬い爲めに、他の昆布屬のものに比して醱酵し難い。然しホソメコンブにあつても No. 26 は比較的粗蛋白質量が多いためよく醱酵し、ホソメコンブの中でも特に粗蛋白質含有量の少い No. 32, 33 は殊に醱酵不良の様である。又ヒバマタ科のものは一般にアルギン酸が比較的少く、殊に、藻體が硬い爲めに醱酵が不良であると考えられる。

No.	Algae	Swelled Water (g)	7days	8days	11days	12
14	*Laminaria ochotensis Miyabe*	67	5.54		6.48	
6	*Laminaria japonica Aresch*	92	5.90		8.63	
22	*Laminaria angustata kjellum*	69	6.64		8.63	
21	〃	87	7.38		10.42	
24	〃	98	7.38		12.95	
35	*Laminaria religiosa Miyabe*	83	4.43		6.83	
34	〃	77	4.07		7.55	
36	〃	76	4.43		6.12	
32	〃	73	4.80		6.12	
33	〃	60	4.43		6.12	
67	*Cystophyllum hakodatense Yendo*	50		1.85		3
69	〃	30		1.85		
100	*Sarassvm Thurnbergii (mert.) O. Küntze.*	60		2.21		3
80	*Sargassum confusum Ag.*	52		2.59		3
89	〃	54		1.85		2
88	〃	30		1.48		2
74	*Sargassum Horneri (Turn.) C. Ag.*	38		2.59		3
65	*Pelvetia Wrightii (Harv.) Yendo*	75		5.17		7
62	〃	98		7.01		9
64	〃	71		2.21		5

Table 2.

Produced acid during fermentation (%)												
days	14days	15days	19days	20days	24days	25days	26days	27days	28days	32days	34days	35days
	8.06		7.84									
	11.26		11.30									
	9.82		10.98		11.61			11.87				
	11.57		10.35		10.66							
	10.97		10.92		8.29							
	8.41			8.22								
	9.82		10.14		10.35			10.92			10.58	
	7.01			7.97		7.43						
			8.64		9.36			9.41				
	7.17		7.84		11.27			7.97			9.63	
.96		5.26		5.18		5.61			5.15			4.95
		2.80		2.99			3.18			3.45	4.37	
.24		4.56		5.02			5.65					6.79
.60		4.56		4.39					4.72	3.15	5.15	
.52		4.44		4.98			4.77			5.33	5.38	
.16		2.80		3.65								
.96		3.86		4.39			4.39			4.87	4.57	
.55		8.41		8.30			8.90			8.78	9.41	
.39				9.10		10.66			9.13			9.15
.04				6.31		6.13			6.59			7.00

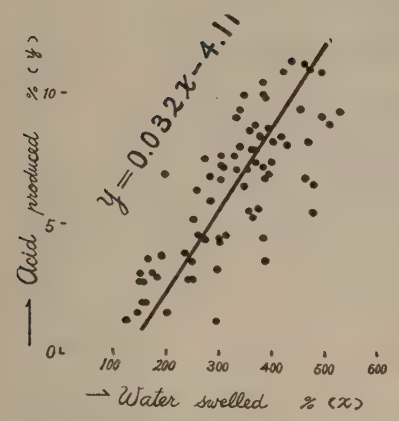
Table 4.

No.	Algae	Swelled Water (g)	Produced acid during fermentation (%)								
			3days	4days	5days	6days	7days	8days	11days	12days	15days
14	*Laminaria ochotensis Miyabe*	87	4.43				7.91				
5	*Laminaria japonica Aresch.*	64		6.27			9.59		10.24		9.30
6	〃	67	4.43				11.51				
7	〃	73		5.54			9.59		13.65		10.96
22	*Laminaria angustata Kjellm*	74		7.38			11.81				12.62
21	〃	102		12.55			14.02		13.31		13.95
26	*Laminaria religiosa Miyabe*	97			8.86			10.07			
34	〃	76			4.43			8.63		10.87	
30	〃	63			7.75					9.11	
36	〃	90			8.12			8.27		8.76	
33	〃	91			7.01			9.71		10.52	
29	〃	69			2.95			4.32		6.66	
49	*Alaria crassifolia Kjellm*	78		8.12			8.85		9.56		10.96
52	〃	70		7.01			8.86		9.90		10.30
57	〃	62		5.54			8.12				
53	〃	73		6.27			8.86		11.22		
67	*Cytophyllum hakodatense Yendo*	56				6.27			6.66		
69	〃	30				2.58			3.86		
70	〃	33				2.21			3.24		
00	*Sargassum Thunbergii (mert.) O. Küntze*	64				5.17			7.01		
89	*Sargassum confusum Ag.*	53				4.32			4.03		
71	*Sargassum Horneri (Turn.) C. Ag.*	36				2.21			5.26		
64	*Pelvetia Wrightii (Harv.) Yendo*	91				4.80			4.91		

Table 5.

No.	Algae	Swelled Water (g)	Produced acid during fermentation(%)				
			3days	5days	6days	10days	12days
14	*Laminaria ochotensis Miyabe*	60	4.43		7.55		
5	*Laminaria japonica Aresch*	75	4.06		7.55	8.76	9.90
6	〃	79	4.43		9.71		
7	〃	64	3.69		8.27	9.90	10.63
22	*Laminaria angustata Kjellm*	83	4.06		11.87	13.67	12.63
21	〃	98	3.69		12.59	12.62	12.63
26	*Laminaria religiosa Miyabe*	100	2.95		6.83	9.11	9.90
36	〃	77	2.58		6.48	8.76	8.53
49	*Alaria crassifolia Kjellm*	77	5.90		8.41	10.24	10.96
52	〃	72	4.43		11.87	11.72	11.61
67	*Cytophyllum hakodatense Yendo*	49		5.54		5.76	6.31
69	〃	35		3.32		4.68	5.26
100	*Sargassum Thunbergii (mert.) O. Küntze*	69		4.06		3.96	4.56
89	*Sargassum confusum Ag.*	52		1.85		5.40	5.31
71	*Sargassum Horneri (Turn.) C. Ag.*	31		1.85		3.60	3.86
64	*Pelvetia Wrightii (Harv.) Yendo*	86		4.06		5.04	5.26

Fig. 1.



エゾイシゲはアルギン酸が豊富で且つ他のヒバマタ科の海藻に比して柔軟であるため醱酵が良好であると考えられる。

6) 吸水量 Swelled Water

海藻の藻體の軟さは、前に述べた前處理の際に藻體の膨潤する程度、即ち藻體に吸收せられる水分の量即ち吸水量によつて表す事が出來る。此の吸水量と醱酵による化生酸量との關係を知るために、各種海藻に就て化生酸量のグラフを描きそのグラフから第 15 日目の化生酸量を求め、之と吸水量との關係を圖示すれば第 1 圖に示す通りである。圖中吸水量は原藻の重量に對する百分比を以て示した。之によつて見れば、吸水量と化生酸量との關係は直線關係を示すと思われ $y=ax+b$ なる式に就て平均法によつて a 及び b を求めた結果は次式の通りであつて吸水量の大なる程化生酸量の大なる事が判る。即ち $y=0.032x+4.11$

上式中 y は 15 日目の化生酸量を、x は吸水量を示している。

7) 成 育 時 期

成育時期と醱酵との關係に就ては、本報告中の資料丈では斷定し難いが、一般に春に採取した海藻は吸水量も大であり化生酸量も多い様に思われる。

文　　献

(1) 鈴 木　昇 (1945)：日水誌, 11, (5～6), 192.
(2) 同　上 (1945)：同　上, 12, (1), 12.
(3) 同　上 (1952)：本　誌, 3, (3), 114.
(4) 同　上 (1952)：本　誌, 3, (1), 68.

（水產科學研究所業績　第 115 號）

海洋底質の化學的研究

第 6 報　淺海底土に含まれている海底腐植の有機成分について

加 藤 健 司 (無機化學，海藻化學教室)

CHEMICAL STUDIES ON MARINE DEPOSITS.

VI. ON THE ORGANIC CONSTITUENTS OF MARINE HUMUS OF SHALLOW-WATER DEPOSITS.

Kenji KATO

(Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

In the cycle of life in the sea, the organic matters in marine deposit, "marine humus", play an important role. Their distributions have intimate connection not only with biological environments, but also with oceanographical factors, as sea current or bottom configuration.

The chemical composition of marine humus is influenced by such geographical conditions, as water depth, distance from land or terrigenous sedimentation, and by such biological conditions, as sea weeds, planeton or benthos.

On the organic matter of shallow-water deposits, taken from Usu-Bay, Hokkaido, approximate analyses have been carried out by means of S. A. Waksman's method[7].

According to the results of analyses, the stable humus-compounds make up the principal portion of organic matter in the deposit, as much as $^1/_2 \sim ^1/_3$.

The humus-compounds were extracted from the deposits by 2.5% NaOH aquation, and then were separated chemically into four humus fractions, α-, β_1-, β_2-and γ-humus.

The contents of organic carbon, total nitrogen and ash were determined on each fraction. It was found that the α-fraction comprised the main portion of humus, as well as γ-fraction, and the constituents of them might be infered from their analysed values;

α-fraction ..... ligno-protein complex

γ-fraction ..... carbohydrate-protein complex

and these inductions were identical to Waksman's report on the deposits of the eastern coast of United States.

The paper-chromatographical detection of amino-acids on each fraction was carried out, confirming the existence of several amino-acids of like kinds to those in land soil humus.

I. 緒　　論

海底堆積物に含まれている有機物は、廣義に海底腐植 (Marine Humus) と總稱されているが、海底における有機物の分布狀態は、海潮流、海底地形、陸地よりの河川による土砂の搬入などの地理學的條件や、その海域に棲息する生物分布などにより支配されるが、また一方その分布の狀況は漁場環境要因として、その海域の資源學的重要因子となつている。これらの諸問題について

は、著者は主として陸奥灣[1]、有珠灣[2]、及び武藏堆を中心とした北海道北西海域[3][4]などを對象として調査研究を進め、それらの相互の關連性について考察を續けて來た。また、海底における接觸分解作用[5]や、溶存酸素の吸收[6]などの問題からも、海底腐植の化學的意義について檢討を試みた。

しかるに、かくの如く海洋學的に、或は資源學的に重要な意義をもつている海底腐植自體の化學的性質については、未だ充分の檢討がなされて居らず、殊に本邦においては、殆どその化學的研究がなされていない樣に思われる。

而して、海底腐植の化學的組成が、その成因や環境により支配されるであろうことは、當然予測されるところであるが、本報においては、先づ陸性要因を最も多く反映し、また資源學的にも最も重要な役割を果たしている內灣の淺海底土を取上げ、S. A. Waksman[7] の方法に基き、その中に含まれている有機成分を研究し、その化學的組成や存在狀態などについて、二三の考察を行つた結果について報告する。

なお、本研究の遂行に際し、御援助を賜つた本學鈴木昇教授、並に東北海區水產研究所谷田專治博士に對して深甚の謝意を表すると共に、終始協力を惜しまなかつた奥田泰造、中澤三武兩君に感謝する次第である。また、本研究費の一部は文部省科學研究費に仰いだ、こゝに記して謝意を表する。

Ⅱ. 試　　料

本研究の實驗に供した底質試料は、昭和25年8月16日北海道膽振國有珠灣[2]より採取し、風乾した試料である。有珠灣は噴火灣奥に存在する胃袋狀の小灣で、海苔養殖場として知られている。灣口の狹窄で割合深い（水深5.0米）個所と、灣奥の淺く、塩分の低い水域とより、試料を選定したが、それらの試料の性狀を第1表に揭げた。

Table 1. Characters of air-dried samples.
(Deposits of Usu-bay, Hokkaido, Aug. 1950)

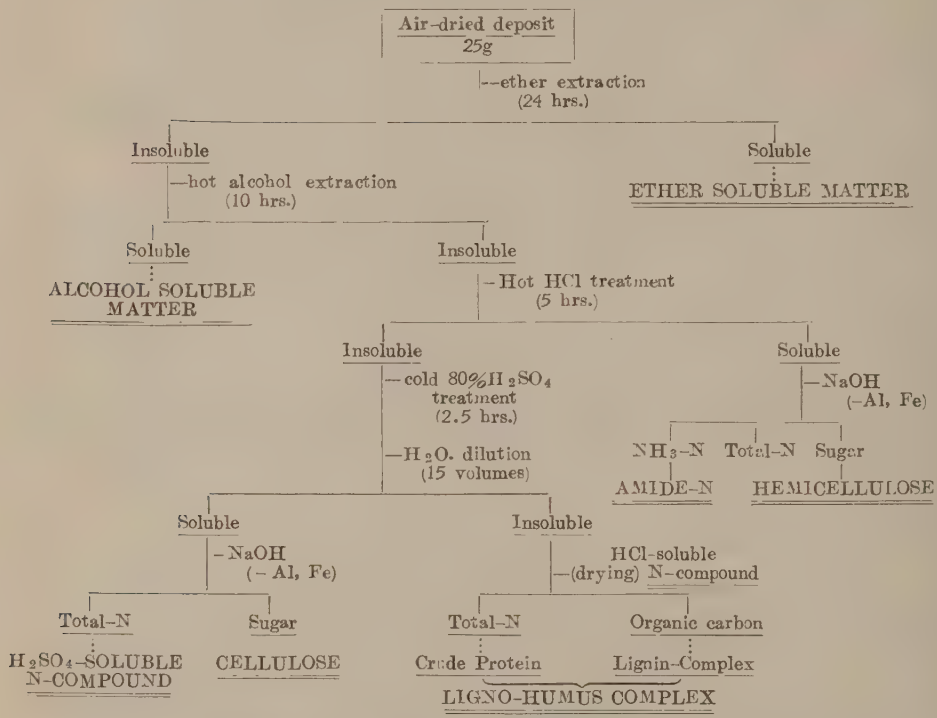
Sample number	U5	U7
Location	Neck of the bay	Inner part of the bay
Water depth (M)	5.0	1.2
Sight	M	M
organic carbon (%)	2.053	0.825
Total nitrogen (%)	0.171	0.067
NH_3-N (%)	0.002	0.001
NO_3-N (%)	0.001	0.009
Ignition loss (%)	8.829	4.593
Water (%)	6.262	4.042

Ⅲ. 實驗經過

(A) 淺海底土の有機成分の化學的組成：——

試料中に含まれている主なる有機成分の組成を明かにするために、系統的有機分析を行つたが、その方法は主として、S. A. Waksman[7] が Buzzard-Bay 及び Gulf of Maine の底質試料について試みた近似的分析法を準用した。その方法の概要は第2表に示した通りである。即ち、先づ、風乾試料25gを24時間エーテル抽出を行う。抽出を終つた試料を更に95%熱アルコールを以て湯煎上で10時間浸出する。次に殘滓に2%塩酸を加え、5時間溫浸、濾過、水洗する。濾液及び洗液を合して一定量とする。この一部について、夫々還元糖、NH_3-N 及び全窒素を定量する。この還元糖は Hemicellulose の、NH_3-N は Amide の含量を推定するのに役立つ。この際塩酸處理により

Table 2. Approximate organic analysis of marine humus.



多量の Fe 及び Al が溶出する。この Fe 及び Al は糖の定量を妨げるから、予め中和して沈澱除去する。塩酸處理後の試料は乾燥し、その 10g をとり、80%硫酸 10c.c. を加え、冷所で2.5時間作用せしめ、次に 15 倍容の水（約 150c.c.）を加えて稀釋した後、3時間煮沸し、濾過水洗する。その濾液及び洗液を合して、その一部をとり、それぞれ還元糖及び全窒素を定量する。その還元糖より、Cellulese 量を算出する。

Table 3. Organic composition of air-dried deposit (mg per 100g sample).

Constituent	U5	U7
Ether soluble matter	140	155
Alcohol soluble matter	680	573
Hemicellulose	124	9
Cellulose	199	20
Cold 80% H_2SO_4 soluble N-compound	517	236
Lignin-humus complex	1,563	468
Insoluble crude protein	(99)	(18)
Lignin-complex	(1464)	(450)
Total	3,223	1,461

硫酸處理後の試料は乾燥し、その一部をとり、それぞれ有機炭素及び全窒素を定量する。この部分に殘存している有機物は、抵抗性の大で、狹義の海底腐植と稱せられるものである」その含窒素化合物の C と N との%が動植物の蛋白質と同一と見做し、全窒素量に 6.25 を乘じて含窒素化合物の量とし、また全有機炭素量から含窒素化合物中の炭素量を減じて無窒素化合物中の炭素量を算出する。而して Waksman は、この

無窒素化合物はリグニン及びその變成物を主成分とするものであるとし、その炭素率は62%として計算している。

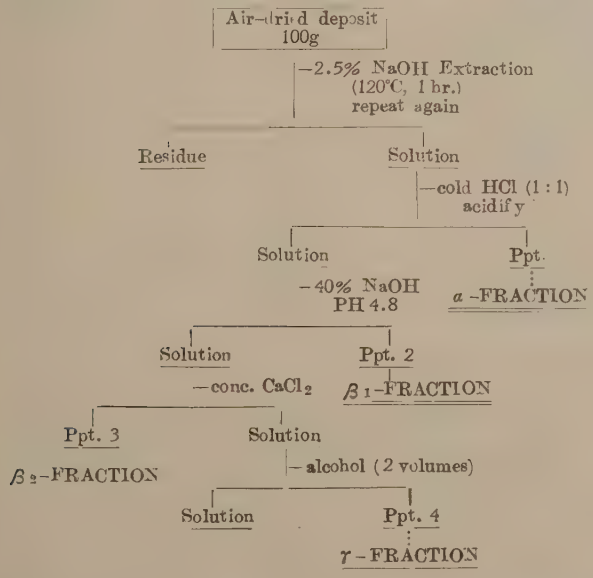
第3表は、この方法による分析結果を掲げたもので、風乾試料 100g 中に含まれている有機成分の組成を mg で表わしてある。

これらの結果より、灣口の深みの堆積物たる U5 と、灣奥の極めて淺い砂泥質の U7 とを比較して見ると、エーテル及び酒精に可溶性の脂肪様成分については余り差が認められないが、Cellulose 及び Hemicellulose については、有機質の沈積の多寡が明瞭に認められ、殊に抵抗性の強い腐植態の有機物の含量については確然たる差違が認められる。U7 においては腐植含量が全有機物量の約½であるのに對して一方 U5 においては約¾を占めている。かゝる事實は、灣口においては、有機物の沈積が旺盛であると共に、その腐植化作用も進捗していて、有機物の組成も漸次變化し、安定な Lignin- 腐植の形態となり海底に貯積されて行くことを示すものと考えてよいであろう。

(B) 海底腐植の分別：——

以上の有機成分の近似的分析結果によつても明かなように、海底土の有機物の約¾～⅘が安定な腐植態をなしているので、これらの腐植を抽出して、Waksman の方法[7]によつて4つのフラクションに分別した。その方法は第4表に示してあるが、風乾土 100g に 2.5% NaOH 溶液を加え、120°C で1時間抽出を行い、試料中の腐植を可溶化せしめる。この操作を反覆して、充分抽出を行う。その濾液を冷塩酸（1:1）で中和し、更に中和に用いられた塩酸の量の半量を過剰に添加して充分酸性にすると、暗褐色の沈澱が出來る。この沈澱は α-腐植と稱せられるフラクションで、これを水洗乾燥する。次に濾液を 40% NaOH 溶液で中和し、その pH を約4.8とする。この時、淡褐色の沈澱を生ずるが、これを分離水洗乾燥する。このフラクションを β_1-腐植と稱する。更に濾液を濃 $CaCl_2$ 溶液で處理すると、褐色の沈澱が得られる。これが β_2-腐植である。終りに、濾液に約2倍量の95%酒精を添加して放置すると沈澱が得られる。これを分離し、酒精とアセトンで充分洗滌した後乾燥すると、γ-腐植が得られる。第5表は、かくの如くして分離された腐植フラクションの收量の一例を示したものである。

Table 4. Fractional separation of marine humus



(C) 海底腐植フラクションの化學組成：——

以上の如く分離した腐植フラクションについて、それぞれ有機炭素、全窒素及び灰分を定量し

Table 5. An example of humus-separation (mg per 100g of air-dried deposit).

fraction	U5	U7
α -fraction	836	205
β_1-fraction	9,818	5,302
β_2-fraction	235	494
γ -fraction	664	215

Table 6. Chemical compositions of humus fractions.

	fraction	organic carbon (%)	total-N (%)	C/N	ash (%)
U5	α	60.29	3.963	15.7	5.01
	β_1	3.70	0.312	11.9	90.71
	β_2	14.52	0.946	15.4	71.36
	γ	15.82	1.242	12.7	64.05
U7	α	63.31	3.971	15.7	4.83
	β_1	2.10	0.182	11.5	86.02
	β_2	3.24	0.201	16.2	88.72
	γ	3.72	0.675	12.9	76.03

Table 7. Presumption of chemical constituents of humus fractions.

(1) α-fraction

	organic constituent	Content (%) of the constituent	Organic-C (%) in the constituent	C-ratio of the constituent
U5	crude protein	24.77 (A)	12.39 (B)	50 (C)
	Non-N-compound	70.23 (D)	47.90 (E)	68 (F)
U7	crude protein	24.82	12.41	50
	Non-N-compound	70.93	49.90	71

∴ Non-N-compound……Lignin-complex (?)

∴ α-fraction …… ……Ligno-protein complex (?)

(2) γ-fraction

	organic constituent	Content (%) of the constituent	Organic-C (%) in the constituent	C-ratio of the constituent
U5	crude protein	7.76	3.88	50
	Non-N-compound	64.05	11.94	42
U7	crude protein	4.22	2.11	50
	Non-N-compound	80.03	6.61	41

∴ Non-N-compound…… carbohydrate (?) (uronic polymer)

∴ γ-fraction……carbohydrate-protein complex (?)

Note: (A)=(total-N)×6.25; (B)=(A)×(C)
(D)=100−(A)−(ash); (E)=(organic-C)−(B
(F)=(E)/(D)

た結果が第6表である。

これによれば、β_1- 及び β_2- フラクションの主成分となるものは無機物で、有機物は10～15%にすぎない。この無機成分の主體をなすものは、酸にも不溶で珪酸の様に思われる。從つてフラクションの收量に於て、β_1- 及び β_2- が大量を占めているように見えるが、その主體が無機成分であつて見れば、NaOH可溶の腐植成分の重要なフラクションは、むしろ α- フラクションと考えるのが至當で、γ-フラクションがこれに亞ぐ。而して、こゝに甚だ興味ある點は、それぞれ海底形態や海洋學的條件を異にする二試料より分離された α-及びγ-フラクションのC/Nがいづれも極めて類似していることである。これは、それらの各個のフラクションの化學的組成の一致を示唆する様に思われるので、次に、これらの二つのフラクションの化學組成を更に吟味して、その具體的な存在形態について推定を試みた。

(D) 海底腐植フラクションの化學組成の吟味：——

海底腐植の主要成分たる α- 及び γ-フラクションについて、その有機炭素、全窒素、灰分などの量から、それぞれ含窒素化合物（粗蛋白質）及び無窒素化合物の量を算出し、兩者の結合形態を推定した。その方法及び結果は第7表に掲げた通りである。即ち、粗蛋白質量は常法の如く、全窒素量に6.25を乘じ、その中に含まれている炭素量は粗蛋白質の50%とした。また、無窒素化合物量は、100より粗蛋白質量及び灰分を減じて求められ、また、その中に含まれ

Table 8. Amino-acids in humus fractions.

Amino-acid	α	β_1	β_2	γ
Glutamic acid	+	+	+	+
Aspartic acid	+	+	+	+
Glycine	−	+	−	−
Tyrosine	+	−	−	−
Alanine	+	+	+	+
Valine	+	+	+	+
Leucine	+	+	+	+
Iso-leucine	+	−	−	−
Cystine	+	+	+	+

ている炭素量は全有機炭素量より、粗蛋白質態-炭素量を減じて計算される。かくの如き推定に基き計算を行うと、α-フラクションの無窒素化合物の炭素率は、U5及びU7について、それぞれ68%及び71%となり、リグニンの平均炭素率と類似し、またγ-フラクションについては、その無窒素化合物の炭素率は、それぞれ42%及び41%で、炭水化物の平均組成と類似している。かゝる結果は、Waksman[7]が Gulf of Maine 其他の底質について行つた結果と極めてよく一致して甚だ興味深いものがある。而して、有珠灣底質の場合も、米國における結果と同様、α-フラクションはリグニン蛋白複合体 (Ligno-Protein Complex), γ-フラクションは炭水化物・蛋白複合體 (Carbohydrate-Protein Complex)と推定してよいであろう。また、γ-フラクションの炭水化物は Waksman が他の報告[8][9]において指摘しているように、ウロン酸重合體を主體としたものと思われるが、確認を行わなかつた。

(E) 海底腐植フラクションのアミノ酸組成：——

D.I. Davidson 等[10]が土壌有機物のフラクションについて行つた方法に基き、海底腐植の各フラクションについて、ペーパークロマトグラフ法によるアミノ酸の檢出を試みた。即ち、分離した各フラクションを稀塩酸で加水分解した後、減壓濃縮を反覆して殘存している塩酸の大部分を除去してから、更に $Ca(OH)_2$ で中和したものについて、ペーパークロマトグラフ法を行つた。展開劑としては、石炭酸（90%水飽和）及びルチヂン（水飽和）を用いて、二次元法で展開させ、常法によりアミノ酸を檢出した。その確認されたアミノ酸は第8表に掲げたグルタミン酸、アスパラギン酸、グリシン、チロシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン及びシスチンなどであるが、これらは土壌有機物の場合と類似している。この他に二、三の未確認のスポットが存在するが、これらについては別の機會に檢索したいと思つている。

Ⅳ. 總　　括

北海道有珠灣の淺海底土の有機成分を分析して、その有機組成の概要を明かにした。その結果海底土の有機質の½～⅔が海底に於て變成された安定な腐植態の有機質によつて占められていることが判つた。次に 2.5% NaOH 溶液を以て腐植を可溶化抽出し、α-, β_1-, β_2- 及び γ- の4つのフラクションに分別した。更にこれらのフラクションの有機炭素、全窒素及び灰分を定量した。而して、海底腐植の主要成分たる α- 及び γ- フラクションについて、その構成々分の推定吟味を試み、その存在形態が、それぞれリグニン蛋白複合體及び炭水化物・蛋白複合體であろうと推論した。これらの結果は、いづれも S. A. Waksman が米國東海岸の底質試料について行つた結果と、極めてよく一致して甚だ興味深い。更に、各フラクションのアミノ酸組成を知るため、ペーパークロマトグラフ法によりアミノ酸の檢索を行つた。それによれば、大體9種のアミ

ノ酸が確認されたが、その他にも、二、三の未確認のスポットが存在した。この確認された構成アミノ酸は、陸上の土壌有機物フラクションに關する檢索の結果と類似して、この淺海底土の有機成分の起源が、多く陸性因子に歸因することを示して居る樣に見える。

V. 文　　献

(1) 加藤健司, 石塚孝成 (1949)：海洋底質の化學的研究. 第1報　陸奥灣に於ける底質腐植の分布に就いて. 水產學雜誌. 第54號, 7—12頁.

(2) 加藤健司, 谷田專治, 奥田泰造 (1951)：有珠灣の水質及び底質について. 北水試研究報告. 第8報. 39—68頁.

(3) 加藤健司, 奥田泰造 (1950)：北海道北西海域漁場の環境要因としての海洋底質について. 北部日本海深海魚田調查報告, 第1報, 15—35頁. (小樽市北部日本海深海魚田調查協會)

(4) 加藤健司 (1951)：海洋底質の化學的研究　第3報　北海道北西海域に於ける海底腐植の分布に就いて. 北大水產學部研究彙報, 第2卷, 第3號, 10—30頁.

(5) 加藤健司, 奥田泰造 (1949)：同上, 第2報　海洋底質の接觸分解作用に就いて. 水產學雜誌, 第54號, 13—20頁.

(6) 加藤健司, 奥田泰造 (1952)：同上, 第5報　海底土による海水溶存酸素消費作用について. 北大水產學部研究彙報, 第2卷, 第4號, 281—292頁.

(7) Waksman, S. A. (1932)：On the distribution of organic matter in the sea bottom and the chemical nature and origin of marine humus. Soil Sci. Vol. 36, pp. 125—147.

(8) Waksman, S. A., Carey, C. L., and Reuszer, H. W. (1933)：Marine bacteria and their rôle in the cycle of life in the sea; I. Decomposition of marine plant and animal residues by bacteria: Biol. Bul. vol. 65, pp. 57—79.

(9) Waksman, S. A., and Reuszer, H. W. (1932)：On the origin of the uronic acids in the humus of soil, peat and composts. Soil Sci. Vol. 33, pp. 145—151.

(10) Davidson, D. I., Sowden, F. J., and Atkinson, H. J. (1951)：Application of paper chromatography to identification and quantitative estimation of amino acids in soil organic matter fractions. Soil Sci. Vol. 71 pp. 347—352.

(水產科學研究所業績　第116號)

魚肉研究法の基礎的檢討

2. 魚肉腐敗研究法の一考察（サメ肉の使用について）

村田　喜一・大石　圭一　（水產食品化學教室）

FUNDAMENTAL EXAMINATION FOR STUDYING FISH MEAT.

II. A NEW METHOD FOR ESTIMATING THE PUTREFACTION OF FISH MEAT.

Kiichi MURATA and Keiichi OHOISHI

(Aquatic Food Chemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

Among various methods for examining the freshness of fish meat hitherto contrived, the detection by means of estimating the quantity of ammonia produced (when the quantity of ammoniacal nitrogen develops to 30mg. per cent in fish meat, this meat is regarded to be in incipient putrefaction) is most frequently used in practice and is regarded as a standard method.

This is indeed the most reliable method for estimating the putrefaction of fresh meat, but not for dried, salted, antiseptized meat, etc., because it is impossible to find the previously rapid developing of putrefactive ammonia in those meats.

In any species of shark meat, there is a content of about 1.5 per cent of urea.[1] When the meat has lost its freshness, this urea is decomposed to ammonium carbonate, so the pH value of the meat rises from about 6 to 8. The developing of the pH value is so remarkable that the formation of ammonia is learned easily by the colour test of pH value. This remarkable development of ammonia in shark meat is recognized either in natural meat, or in antiseptic, salted and dried meat. So, if shark meat is used instead of ordinary fish meat, when it is desired to study the putrefaction of fish meat which occurs under various conditions, what results will be gained, comparing with the ordinary fish meat ? To get the answer to this question just stated, the authors carried out the below described experiments, e. g. for comparing the ammoniacal developing period of urea-containing fish meat with the putrefactive period of non-urea meat under various temperature, for determining the minimum quantity of antiseptics in fish meat extract, and for investigating the effect of mixed antiseptics on minced fresh meat, and also for studying the antiseptic effect of salting and drying on fish meat.

Results as follows were gained:

(1) The ammoniacal developing time of urea containing fish meat (shark meat) is a little shorter than the putrefactive time of non-urea meat (fish meat except shark).

(2) It is ascertained that the minimum quantity of antiseptics in the fish extract, i.e. toluol, thymol, chloroform, is about 0.6 per cent at 37°C for shark, and toluol is between 2.0 and 4.0 per cent for "Umazurahagi-fish" (*Cantherinus modestus GUENTHER*) and between 0.4 and 2.0 per cent for cod, at the same temperature.

(3) It is known that the antiseptic effect of thymol on both minced shark and "Aji-fish" (*Trachurus japonicus TEMMINCK et SCHLEGEL*) meat is peculiar in spite of its slight solubility in water.

(4) The putrefaction of shark meat is hardly found when the meat is dried up to 35 per cent of water content, but for mackerel, it is about 25 per cent. In the case of salting, 12.5 per cent of salt content (when the water content is 60 per cent) seems a limit of decomposition for both fish meat. And in dried and salted shark meat, the limit of putrefaction is shown diagramatically by one straight line which is drawn through the next two points, i.e. one point is on the 35 per cent of horizontal axis (water content), and the other on the 12.5 per cent of vertical axis which stands on the 60 per cent of horizontal axis (salt content). This line is called the marginal line of putrefaction in the drying and salting of shark meat. On the upper side of this line, only a few samples were decomposed, and on the lower side, the preservative days were proportional to the salt concentration (salt g. × 100 per water g. in 100g. of meat). This line for shark meat coincides with the 2 weeks line of putrefaction for the dried and salted mackerel meat, and below the 2 weeks line, the preservative days were proportional to salt concentration as in the case of shark.

Observing these results, though the two experimental results do not coincide with each other difinitely, one can learn the tendency of the putrefaction of the ordinary fish meat through the experimental results with the shark meat.

魚肉の腐敗檢定法には種々あるが、その中で最も多く用いられ、然もその基準とみなされているものは、アンモニア含量によつて判定する方法である。即ち、アンモニア態窒素が急激に增加する時期、或いは30mg%の含量となつた時を以て、腐敗開始期としているのである。かゝる判定法は、試料が鮮肉である場合には有効適確であるが、乾燥したり、或いは防腐したりした試料については判定が困難な場合がある。例えば、乾燥した魚肉では乾燥によつて、最切から少量存在していたアンモニアが濃縮されて、高いアンモニア含量になつている場合もあり得るし、防腐狀態のものでは、自家消化酵素によるアンモニアの增加も考えられるので、30mg%のアンモニア含量を以て、腐敗を開始したものと判定してよいか、どうかについて疑を生ずる場合がある。

所が、サメ肉は1.5%内外の尿素をその筋肉中に含んでいて(1)、鮮度が低下すると、この尿素が急激に分解されて炭酸アンモンとなり、pH値は6付近のものから急に8となり、鮮度の低下によるアンモニアの生成は、pH値の變化によつても極めて容易に知られる。又、サメ肉では、乾燥、塩藏、或いは防腐したものでも、それらの効果が充分でない時には、鮮肉よりは遲れるが、やはり急激にアンモニアを生成する。故に、サメの防腐肉では、その防腐効果がないかどうかは、アンモニアが增加するかしないかによつて、非常にはつきり知られる。又、アンモニアが發生すれば、pH値は著しく上昇するから、アンモニアの增加は試料のpH値を試驗して知ることが出來る。フエノール・レツド試驗紙（以後PR試驗紙と稱する）はpH値が8付近で赤變するから、サメ肉のアンモニア生成を調べるには、PR試驗紙が赤變したか、どうかを調べればよい。

所で、防腐した一般魚肉の防腐効果を調べるには、同じ狀態に防腐したサメ肉のアンモニア生成狀態を調べて、この結果をそのまゝ一般魚肉にあてはめることが出來ないだろうか。それが出來るかどうかを知るためにこの研究を行つた。

なお、サメ肉のアンモニア生成期を以てサメ肉の腐敗期と見なすべきでないことは、既に論じておいた(1)。然し、サメ肉のアンモニア生成は細菌の作用によるものであるから、サメ肉のアンモニア生成と一般魚肉の腐敗との間には、兩者を支配する共通した、物理、化學的要因があるだろうと考えて、この實驗を行つたのである。

實驗の部

實驗 1. サメ肉とサメ以外の魚肉との種々の溫度に於ける腐敗變化の觀察.

サメ肉のアンモニア生成と、サメ以外の魚肉の腐敗臭生成との時間的關係を知るために、37, 23～27, 5～11°Cの溫度に於て次の實驗を行つた。

實驗操作： 100c.c.容三角フラスコに魚肉 30g. を入れ、密栓をして所要の溫度に貯え、一定時間毎に取出して、官能試驗を行つた。

實驗材料： 12月上旬に漁獲された、極めて新鮮なアブラツノザメ (*Squalus suckleyi* (*GIRARD*)) 及びキチジ (*Sebastolobus macrochir* (*GUENTHER*)) の精肉を採取して挽肉となし、アブラツノザメ挽肉の一部は肉と同量の水で3回抽出して、大部分の尿素を除いたものを用いた(2)。

なお、サメ脫尿素肉調製の目的は、サメ肉の特徵である强烈なアンモニア臭の生成は、そのエキス中の尿素によるものであり、尿素を除けば普通一般の魚肉と大差がないことを示そうとしたものである。脫尿素の操作によつて、水分及びエキストラクト量は變化するが、それによつて腐敗速度に著しい影響のないことは既にサバ肉について確めてある(2)。

實驗結果： 第1表のようである。

結果の判定： アンモニア臭と腐敗臭とは明かに區別される。即ちアンモニア臭は刺戟性だけであるが、腐敗臭はアンモニア臭と異つた不快さを伴つている。サメ肉のアンモニア臭生成時は、サメ脫尿素肉或いはキチジ肉の腐敗臭生成時に比べて、稍々早いように觀察された。

Table 1. The putrefactive changes in urea-containing fish meat and non-urea meat under various temperatures.

temp.	37°C			23～27°			5～11°C		
samples / days	minced shark meat	minced deurea shark meat	minced "kichiji fish" meat	minced shark meat	minced deurea shark meat	minced "kichiji fish" meat	minced shark meat	minced deurea shark meat	minced "kichiji fish" meat
0	very fresh	very fresh	very fresh	very fresh	very fresh	very fresh	very fresh	very fresh	very fresh
1	developing ammoniacal odour faintly	developing putrefactive odour faintly	developing putrefactive odour faintly	developing ammoniacal odour faintly	fresh	developing putrefactive odour faintly	fresh	fresh	fresh
2	vigorously	strongly	strongly	strongly	developing putrefactive odour faintly	developing putrefactive odour faintly	ditto	ditto	ditto
3	ditto	vigorously	vigorously	vigorously	strongly	strongly	developing ammoniacal odour faintly	developing putrefactive odour faintly	developing putrefactive odour faintly

Shark.....*Squalus suckleyi* (*GIRARD*) Kichiji-fish .....*Sebastolobus macrochair* (*GUENTHER*)

實驗 II. 魚肉エキスの防腐試驗

魚肉エキスに對する防腐劑の適用量を知るために次の實驗を行つた。

第1實驗, ウマズラハギ肉エキスについて

防腐劑（トルオール）の魚肉エキスに對する防腐効果を知るために次の實驗を行つた。

實驗操作： 1月20日に漁獲された新鮮なウマズラハギ (*Cantherinus modestus* (GUENTHER)) の精肉を採取し、この挽肉500g.を水で3度抽出して750c.c.の抽出物を得た。この25c.c.を100c.c.容三角フラスコに入れ、密栓し、100°C で5分間加熱し、後冷却して加熱しない先のエキスを數滴加えたものに、トルオールを夫々0（加熱對照)、0.4, 2.0, 4.0, 40% になるように加えたもの及び加熱しないもの（無處理對照）を37°C に放置し、適時、そのアンモニアを定量して次の結果を得た。但しこの場合の濃度は、エキス 100c.c. に 1c.c. のトルオールを加えたものを1% として表現してある。

實驗結果： 第2表及び第1圖に見られるように、2.0% では4日迄防腐され、4.0%では5日以上防腐される。

Fig. 1. Showing the antiseptic effect of toluol on "Umazurahagi-fish" extract at 37°C.

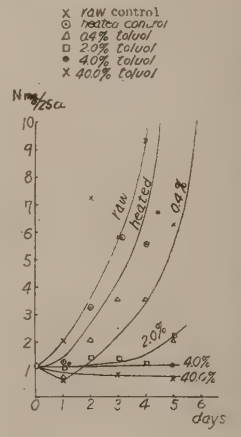


Table 2. The antiseptic effect of toluol on "umazurahagi-fish" extract at 37°C. (units : Volatile-N mg/25c.c. extract)

Samples \ days	0	1	2	3	4	5	6
raw control	1.18	2.06	7.23	5.82	9.30	6.27	
heated control		1.28	3.28	5.80	5.60	18.80	
toluol 0.4%		0.73	2.11	3.51	3.54	2.12	14.1
〃 2.0%		1.17	1.47	1.44	1.21	2.31	
〃 4.0%		1.15				1.16	
〃 40.0%		0.67		0.85		0.63	

"umazurahagi-fish" *Contherium modestus* (GUENTHER)

第2實驗 マダラ肉エキスについて

マダラ肉エキスについて同様な實驗を行つた。

實驗操作： 1月31日に漁獲された新鮮なマダラ (*Gadus macrocephalus TILESSI*) について、ウマズラハギの場合と全く同様にしてエキスを調製し、これを3~7°Cの室溫に12時間放置してから、更に前の場合と全く同様な實驗を行い、次の結果を得た。

Table 3. The antiseptic effect of toluol on cod-fish extract at 37°C.

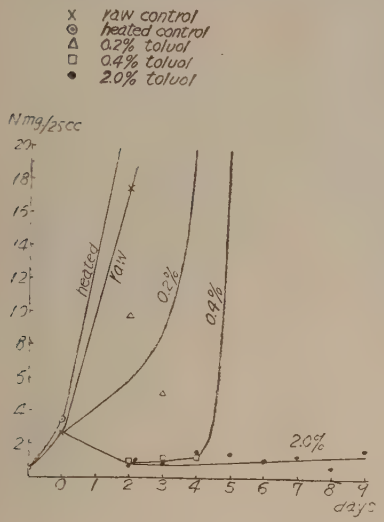
(units : Volatile-N mg./25c.c. extract)

Samples \ days	original extract	0	2	3	4	5	6	7	8	9
raw control	0.57	2.78	17.5	36.9, 39.2						
heated control		3.54	22.0	26.9						
toluol 0.2%			9.85	5.07	22.4	20.5	19.4			
〃 0.4%			1.16	1.29	1.44	25.2	32.8			
〃 2.0%			0.83, 1.25	0.91	1.63	1.54	1.16	1.47	0.74	1.92

„Cod-fish"..... *Gadus macrocephalus TILESIVS*

實驗結果： 第3表及び第2圖に見られるよ

Fig. 2. Showing the antiseptic effect of toluol on cod-fish extract at 37°C.



うに、トルオールで魚肉エキスを防腐するには、2.0%の濃度を要することが判つた。

第3實驗, サメ肉エキスについて

第1及び第2實驗の結果と比較して、サメ肉エキスの防腐試驗では、いかなる結果が得られるかを知ろうとして、次の實驗を試みた。

實驗操作： 12月20日に漁獲されたアブラツノザメの精肉を挽肉とし、これを同重量の水で3回抽出してエキスを調製し、この 50c.c. を 100c.c. 容三角フラスコに入れ、更に、それらエキスの 100 c.c に對し夫々、クロロフオルム、トルオール、チモール及びそれらの混合物（クロロフオルム 10c.c., トルオール 10c.c., チモール 10g.）並に市販フオルマリン（41.7%）を次の量、即ち 0.02, 0.06, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 1.0, 1.4, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0c.c. を加え、これを 37°C. に保ち PR 試驗紙の赤變されるに要する日數を調べ、これによつて防腐劑の効果を判定した。

實驗結果： 32日間試驗した結果を第4表に示す。特に記載のないものは、32日間變化しなかつたものである。トルオールでは 0.4～0.6% で防腐効果があり、クロロフオルム、及びチモールでは 0.3～0.4% であり、混合防腐劑では 0.4～0.6%、フオルマリンでは 0.02%（原液は 41.7% であるから約 0.008%）で 32 日間防腐効果があることが判つた。即ち、サメ肉エキスを供試して、PR 試驗紙の赤變により、防腐試驗を行つた結果は、ウマズラハギ及びマダラについて行つたものと大體一致するようである。

Table 4. The days of developing ammonia in shark extract, antiseptic for 32 days at 37°C.

antiseptics / Concentration	chloroform	toluol	thymol	mixture	formalin
0.00	2 days	2 days	1 day	1 day	1 day
0.02	3	1	1	1	
0.06	2	1	2	1	
0.1	2	1	2	2	
0.14	1	1	2	2	
0.2	1	1	4	2	
0.3	2	1	5	5	
0.4		4		8	
0.6					
1.0					
1.4					
2.0			4		
3.0		3			
4.0					
6.0					

Note: The antiseptic effect for 32 days is shown in blank column.

Table 5. The mixing ratio of antiseptics.

antiseptics \ no. of samples	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	(raw) 11	(heated) 12
thymol	3	2	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0
chloroform	0	0	1	2	1	0	1	2	3	0	0	0
toluol	0	1	0	0	1	2	2	1	0	3	0	0

Table 6. The effect of mixed antiseptics on minced maaji-fish meat at 37°C.

(units: Volatile-N mg%)

days \ No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
0											25.3 27.8	
1	23.6	22.8	22.8	22.8	24.9	31.2	29.5	37.4	40.8	20.2	117	90.2
2	29.5	32.4	23.6	25.3	20.6	26.9	108	255	316	116	323	175
3	31.6	25.7	15.6	28.2	25.7	26.1	327	493	594	326	640	331
6	39.1	28.2	26.9	20.6	25.3	37.5					870	403
5	51.1	38.7	32.4	26.5	29.5	38.7						
6	49.4	30.3	37.1	25.7	20.1	38.7						
7	51.5	36.7	38.3	38.7	22.7	49.3						
8	46.4	45.2	30.8	37.5	18.1	55.3						
9	56.5	33.3	30.8	35.8	43.0	49.8						

"maaji-fish"……*Trachurus japonicus TEMMINCK et SCHLEGEL*

Fig. 3. Showing the effect of mixed antiseptics on minced "maaji-fish" meat at 37°C

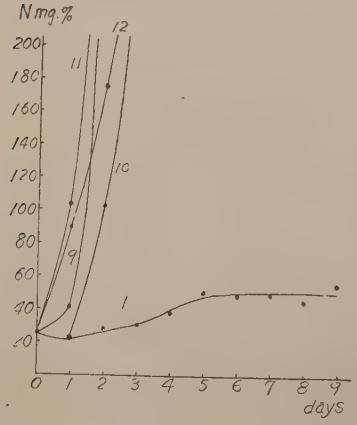


Fig. 4. Showing the effect of mixed antiseptics on minced "maaji-fish" meat at 37°C

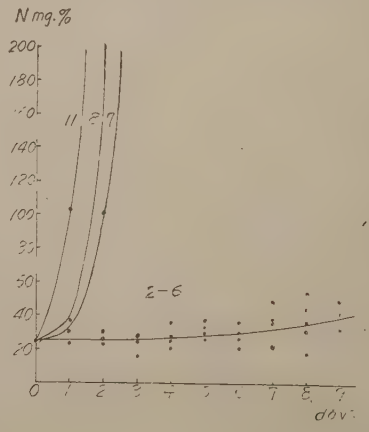


Table 7. The effect of mixed antiseptics on minced dochizame-fish meat at 37°C.

(units : Volatile-N mg%)

No. / days	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0	13.6										
1	20.7	13.2	15.0	15.0	13.2	13.2	13.2	17.0	13.2	17.0	556.5
2	26.4	17.0	22.6	20.7	15.0	17.0	17.0	13.2	20.7	24.5	698.1
3	35.8	17.0	17.0	20.7	17.0	20.7	20.7	17.0	20.7	26.4	735.8
4	49.0	22.6	20.7	20.7	22.6	24.5	22.6	116.9	20.7	128.3	809.4
5	49.0	20.7	22.6	20.7	20.7	24.5	24.5	313.1	18.8	313.1	771.7
6	49.0	24.5	24.5	26.4	22.6	22.6	28.3	567.9	33.9	556.6	826.4
7	50.9	15.0	24.5	26.4	24.5	26.4	64.1	473.5	171.7	671.7	849.0
8	58.2	28.3	22.6	30.1	22.6	22.6	362.2	901.8	420.7	735.8	905.6

"Dochizame-fish"……*Triakis scyllium MUELLER et HENLE.*

Fig. 5. Showing the effect of mixed antiseptics on minced dochizame-fish meat at 37°C

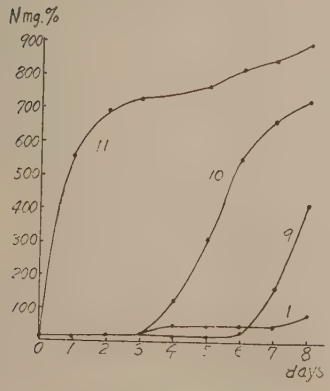
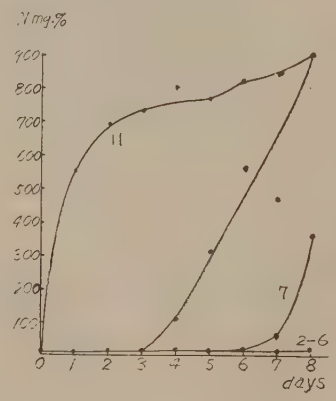


Fig 6. Showing the effect of mixed antiseptics on minced dochizame-fish meat at 37°C.



實驗 Ⅲ. 魚肉の防腐試驗

次に魚肉に直接防腐劑を加えた場合の防腐効果について調べた。防腐劑はトルオール、チモール及びクロロフオルムを第5表に示したような割合で混合して、何れもその濃度が3%になるようにして行つた。なお、この際の濃度は、魚肉 100g. に對してチモール 1g.、或いはクロロフオルム 1c.c. を加えたものを、夫々 1% として示してある。

第1實驗　マアジ肉について

實驗操作：7月5日に漁獲されたマアジ (*Trachurus japonicus TEMMINCK et SCHLEGEL*) の背肉を挽肉とし、上記の割合で防腐劑を混合し、三角フラスコに入れ、密栓し、37°C. に保ち、それより毎日一定量の魚肉を採つてアンモニアを定量した。その結果を第6表、第3圖及び第4圖に示す。なお、12番は細菌單獨の作用を調べるために、100°C. で20分間加熱し、冷却後更に 1% のマアジ挽肉を加えたものである（この場合、1% のマアジ挽肉中の自家消化酵素を無視して考えた）。

實驗結果： トルオールとクロロフオルムとでは、その混合割合をいかに變化させても、それらの防腐効果は著しくないが、これらにチモールを混合するか、或いは又、チモールが單獨であつても、防腐効果が著しく增える。加熱して自家消化酵素を破壞したものと、そうでない對照肉とでは特に著しい差異はない。

第2實驗　ドチザメ肉について

第1實驗と全く同様な實驗を11月26日に漁獲された、ドチザメ (*Triakis scyllium* MUELLER *et* HENLE) 肉について行つた。

實驗結果： 第7表, 第5圖及び第6圖に見られるようである。防腐効果に着目して言えば、この結果はアアジ肉について得られたものと全く一致している。

實驗 Ⅳ. 乾燥及び塩藏による防腐試驗

乾燥及び塩藏が魚肉の保藏日數に及ぼす影響を知るために次の實驗を試みた。

第1實驗　ホンサバ肉について —(1)—

7月11日に漁獲されたホンサバ (*Scomber japonicus* HOUTTUYN) の精肉のみを採取して挽肉とし、湯浴上で乾燥して次の水分含量の試料を6種類調製した。

番號	試料名	含水量	番號	試料名	含水量	番號	試料名	含水量
(1)	試料1（生　肉）	68.3%	(3)	試料3（乾燥肉）	61.4%	(5)	試料5（乾燥肉）	39.2%
(2)	〃 2（乾燥肉）	65.0	(4)	〃 4（〃）	50.3	(6)	〃 6（〃）	19.8

Table 8. The developing ammonia in dried mackerel meat at 37°C. (units: Volatile-N mg%)

No.	1	2	3	4	5	6
samples	control	dried meat	dried meat	dried meat	dried meat	dried meat
moisture% / days	68.3	65.0	61.4	50.3	39.2	19.8
original meat	26.2, 26.2					
0	68.1, 69.0	44.8, 45.2	41.8	52.0	45.0	40.7
1	157	57.5	47.7	59.2, 60.5	45.5	52.6
2		65.5, 74.5	66.0, 66.0	67.6, 67.9	61.5, 66.0	
3		156.5, 159.2	65.0	54.7, 59.9	48.2, 48.2	93.0
4			74. 75.5	44.0, 47.8	45.2, 45.2	100.
5			125, 192	40.5, 41.8	38.9, 48.9	100, 100
6			442, 497	49.5, 51.8	35.2, 59.4	91.5, 97.3
7				50.3, 50.3	47.4, 50.5	109
9				49.7, 54.2		
11				120.4, 122.3		
12				129.8, 133.3	45.5, 64.2	83.4, 111.4
13				506, 510		
14					46.5, 48.0	108.0, 127.5
20					68.6	106, 110.5
23					70.0	
26					72.9	136.5
32					136.5	54.9
33					126.2, 140.0	
35					161, 197	
48					352	83.5

mackerel……*Scomber japonicus HOUTTUYN*

Table 9. The relation between the degree of drying and the preservative days.

No.	1	2	3	4	5	6
moisture %	68.3	65.0	61.4	50.3	39.2	19.8
preservative days	0	2	4	10	30	more than 48

これらを實驗の都合上3～13°C. に1晝夜放置したものに、細菌源として、アジの腐敗肉を、試料100g. に對して1g. の割合で加え、充分擂潰攪拌して後、廣口壜に入れ密栓して37°C に保ち、時々アンモニアを定量した。その結果を第8表に示す。

以上の結果より、主としてアンモニアが急激に增加する點を以て腐敗と見なし、含水量と保藏日數との關係を第9表に示す。この結果は細菌源として腐敗肉を用いたためか、後の實驗に比べれば、保藏日數は短いようである。

第2實驗　ホンサバ肉について　—(2)—

7月30日に漁獲されたホンサバの精肉を挽肉として、これに食塩を 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25% 加え、1% から 10% のものまでは、更に湯浴上で種々の程度に乾燥し、下記の17種の試料を作つた。

番號	試料名	含水量		食鹽量	番號	試料名	含水量		食鹽量	番號	試料名	含水量		食鹽量
		%	%	%			%	%	%			%	%	%
(1)	對照	69.7	70.5	—	(7)	3の1		66.7	2.91	(13)	10の1		63.2	9.09
(2)	1の1		69.2	0.99	(8)	3の2	49.2	51.5	4.34	(14)	10の2	28.5	28.8	17.60
(3)	1の2	60.2	60.9	1.27	(9)	3の3		47.5	4.58	(15)	15		61.1	13.04
(4)	1の3	48.6	48.7	1.65	(10)	5の1		66.3	4.76	(16)	20		59.6	16.65
(5)	1の4	34.9	35.0	2.08	(11)	5の2		57.0	6.07	(17)	25		56.0	20.00
(6)	1の5	15.8	16.3	2.70	(12)	5の3	45.9	46.0	7.94					

これらに細菌源として、ホンサバ內臟及びホンサバ腐敗肉の混合物を、約0.5% の割合で加え、充分攪拌混合した後、これらを密閉容器に入れ37°C. に放置し、適時アンモニアを定量して、第10表の結果を得た。

以上の結果より、第1實驗と同樣に、主としてアンモニアが急激に增加する所を腐敗と見なして、含水量、食塩量及び食塩濃度と保藏日數とを求め、これらの關係を第11表に示す。

第3實驗　ホンサバ肉について　—(3)—

9月11日に漁獲されたホンサバの精肉を挽肉として、これを種々の程度に乾燥し、更に、これらに種々の量の食塩を加えて、次の17種の試料を作つた。

番號	試料名	含水量		食鹽量	番號	試料名	含水量		食鹽量	番號	試料名	含水量		食鹽量
		%	%	%			%	%	%			%	%	%
(1)	70の0	70.6	71.0	—	(7)	60の15		50.2	13.1	(13)	40の0		24.8	—
(2)	70の10		64.4	9.1	(8)	50の0	34.1	34.4	—	(14)	40の1		24.6	0.99
(3)	70の15		59.0	16.7	(9)	50の3		33.1	2.91	(15)	40の3		24.1	2.91
(4)	60の0	57.5	57.7	—	(10)	50の5		32.6	4.76	(16)	30の0	12.5	12.6	—
(5)	60の5		54.8	4.76	(11)	50の10		31.1	9.1	(17)	30の1		12.4	0.99
(6)	60の10		52.4	9.1	(12)	50の15		29.8	13.1					

これらに細菌源として、ホンサバ腐敗肉に倍量の水を加えたものを、魚肉に對して1～3% 加

えた。これらを、第2實驗と同樣な操作をして、第12表の結果を得た。

以上の結果より第2實驗と同樣にして腐敗點を求め、含水量、食塩量及び食塩濃度と保藏日數との關係を求め、これを第13表に示す。

第4實驗　ホンサバ肉について　—4—

11月26日に漁獲されたホンサバ精肉を第3實驗と同樣に處理して、次の9種の試料を作つた。

番號	試料名	含水量 %	食鹽量 %	番號	試料名	含水量 %	食鹽量 %	番號	試料名	含水量 %	食鹽量 %
(1)	70の10	61.3	9.1	(4)	60の10	49.8	9.1	(7)	50の3	44.5	2.9
(2)	70の15	58.6	13.0	(5)	60の15	47.7	13.0	(8)	50の5	43.6	4.75
(3)	60の5	52.2	4.75	(6)	50の0	45.8	—	(9)	50の10	41.7	9.1

これらに細菌源として、加熱しないホンサバの挽肉を1%加え、第3實驗と同樣に操作して、第14表の結果を得た。以上の結果より、含水量、食塩量及び食塩濃度と保藏日數との關係を求めこれを第15表に示す。第1, 2, 3及び4實驗をまとめて、これを第7圖に示す。又、魚肉中の食塩濃度と保藏日數との關係を第8圖に示す。これによれば、兩者の間に比例關係のあることが判る。

Table 14. The developing ammonia in dried and salted mackerel meat at 37°C.

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
samples	70の10	70の15	60の5	60の10	60の15	50の0	50の3	50の5	50の10
moisture %	61.3	58.6	52.2	49.8	47.7	45.8	44.5	43.6	41.7
salt %	9.1	13.0	4.75	9.1	13.0	—	2.91	4.75	9.1
salt conc.% / days	14.8	22.1	9.1	18.3	27.3	--	6.55	10.9	21.8
2	23.8		20.6	22.0	26.7	47.3	41.2	39.0	37.9
3		21.7	27.5		27.1	40.2			
4			34.6		27.3	54.7			
6	41.2	25.4	37.5	25.4		363	46.7 49.0	40.0	31.6
7	48		49				58	44	
10	55	30	45	26 32	26		55	59	
11	54	34	48	30 33	24		58 62	64	47 49
13	66	41		29					46
14				30					43
15				24					46
16		34		34	25				48
18					24 26				40
20				35	26				42
26					28				40

Table 12-1. The developing ammonia in dried and salted mackerel meat at 37°C. (units: Volatile-N mg%)

No.	1	2	3	4	5	6	7
samples	70∞0	70∞10	70∞15	60∞0	60∞5	60∞10	60∞15
moisture %	70.6 71.0	64.4	59.0	57.5 57.7	54.8	52.4	50.2
salt %	—	9.1	16.7	—	4.76	9.1	13.1
salt conc.% / days	—	14.3	28.3	—	8.67	17.35	26.0
0	17.7 17.7 18.1			13.2			
1	30.3 35			29.7 33.2	26.3 28.2		
2	108			40.6			
3		27.8	16.5	111.0	49.5	30.2	26.5
4		45.2 45.6			44.9 44.9		
5		51.3			32.8		
7		57.4			81.3 81.5		
8					163 171		
9		89.6					
10		124.5	19.8			35.2	
11							28.8
14						42.0	
16						35.5 38.4	
20						126 149	
24			22.3				34.0 34.0
25						234	
29			35.1				
30			40.7				
32			48.6				
36			43.0				39.3
38			40.2				46.7
40			30.0				43.9
43							45.3 46.2
59			27.9				39.3

Table 13. The relation between the degree of drying and salting and the preservative days.

No.	moisture%	salt %	salt concentration %	preservative days
1	70.8	—	—	1
2	64.4	9.1	14.3	8
3	59.0	16.7	28.3	more than 59
4	57.6	—	—	2
5	54.8	4.8	8.7	7
6	52.4	9.1	17.4	18
7	50.2	13.1	26.0	more than 59
8	34.2	—	—	17
9	33.1	2.9	8.8	25
10	32.6	4.8	14.6	40
11	31.1	9.1	29.3	more than 60
12	29.8	13.1	43.9	more than 59
13	24.8	—	—	25
14	24.6	0.99	4.0	40
15	24.1	2.9	12.1	more than 59
16	12.5	—	—	more than 59
17	12.4	0.99	8.0	more than 59

Table 12—2.

No.	8	9	10	11	12
samples	50∞0	50∞3	50∞5	50∞10	50∞15
moisture %	34.1 34.4	33.1	32.6	31.1	29.8
salt %	—	2.91	4.76	9.1	13.1
salt conc.% / days		8.82	14.6	29.3	43.9
0	27.9				
1	25.2 30.3	32.2 38.8	25.3 30.5		
2	28.2				
3	21.3	55.5	55.5	39.3	39.0
4	31.5				
5	23.1 23.1	22.2	22.6		
7	22.3 23.8	21.1 21.1	22.4 39.0		
9		35.0	23.8		
10	41.7	31.5 32.1	32.6		
11				29.0	31.7
14	61.2 61.6	35.4	26.8	31.9	
16	55.2 59.0				
18	97				
19	100				
20		31.8 43.7			
24		65.5 78.3			
25		77.6			
29		81.4	70.5		
30			58.7	53.8	
32			84.6	70.4	
35			88.8	61.7	
40			75.7	58.9	
43			214 219	61.0 61.7	
59				45.3	34.8
60				58.3 59.1	

Table 12—3.

No.	13	14	15	16	17
samples	40∞0	40∞1	40∞3	30∞0	30∞1
moisture %	24.8	24.6	24.1	12.5 12.6	12.4
salt %	—	0.99	2.91	—	0.99
salt conc.% / days	—	4.0	12.05	—	7.99
0	43.9			40.2	
1	22.5 23.1				
2	26.3				
3	24.0	23.9		45.8	42.0
4	35.8 43.5				
5	17.7 18.3				
7	15.2 17.3				
9	19.8				
10	25.5				
11	24.9	26.4	17.8	19.8	22.1
14				29.3	
16	42.0 42.0				
20	35.5				
24	52.8 56.5				
25	58.3				
29	192	51.7			
30		38.6	52.7	50.5	
32		63.7	64.8	69.7	
35		42.9			
36		49.5	33.6	35.5	
40		69.4			
43		75.3 79.0			
45		138 141			
59		395	48.7	48.0	

Table 12–1. The developing ammonia in dried and salted mackerel meat at 37°C. (units:Volatile-N mg%)

No.	1	2	3	4	5	6	7
samples	70⌀0	70⌀10	70⌀15	60⌀0	60⌀5	60⌀10	60⌀15
moisture %	70.6 71.0	64.4	59.0	57.5 57.7	54.8	52.4	50.2
salt %	—	9.1	16.7	—	4.76	9.1	13.1
salt conc.% / days	—	14.3	28.3	—	8.67	17.35	26.0
0	17.7 17.7 18.1			13.2			
1	30.3 35			29.7 33.2	26.3 28.2		
2	108			40.6			
3		27.8	16.5	111.0	49.5	30.2	26.5
4		45.2 45.6			44.9 44.9		
5		51.3			32.8		
7		57.4			81.3 81.5		
8					163 171		
9		89.6					
10		124.5	19.8			35.2	
11							28.8
14						42.0	
16						35.5 38.4	
20						126 149	
24			22.3				34.0 34.0
25						234	
29			35.1				
30			40.7				

Table 12—2.

No.	8	9	10	11	12
samples	50⌀0	50⌀3	50⌀5	50⌀10	50⌀15
moisture %	34.1 34.4	33.1	32.6	31.1	29.8
salt %	—	2.91	4.76	9.1	13.1
salt conc.% / days		8.82	14.6	29.3	43.9
0	27.9				
1	25.2 30.3	32.2 38.8	25.3 30.5		
2	28.2				
3	21.3	55.5	55.5	39.3	39.0
4	31.5				
5	23.1 23.1	22.2	22.6		
7	22.3 23.8	21.1 21.1	22.4 39.0		
9		35.0	23.8		
10	41.7	31.5 32.1	32.6		
11				29.0	31.7
14	61.2 61.6	35.4	26.8	31.9	
16	55.2 59.0				
18	97				
19	100				
20		31.8 43.7			
24		65.5 78.3			
25		77.6			
29		81.4	70.5		
30			58.7	53.8	
32			84.6	70.4	
35			88.8	61.7	
40			75.7	58.9	
43			214 219	61.0 61.7	

Table 15. The relation between the degree of drying and salting and the preservative days.

No.	moisture%	salt %	salt concentration%	preservative days
1	61.3	9.1	14.8	7
2	58.6	13.0	22.1	11
3	52.2	4.75	9.1	7
4	49.8	9.1	18.3	more than 26
5	47.7	13.0	27.3	more than 26
6	45.8	—	—	4
7	44.5	2.91	6.55	7
8	43.6	4.75	10.9	10
9	41.7	9.1	21.8	more than 26

Fig. 8. Showing the relation between the concentration of salt in mackerel meat and the preservative days.

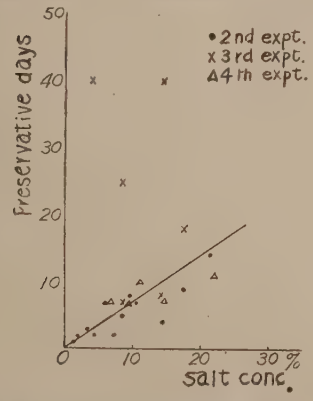
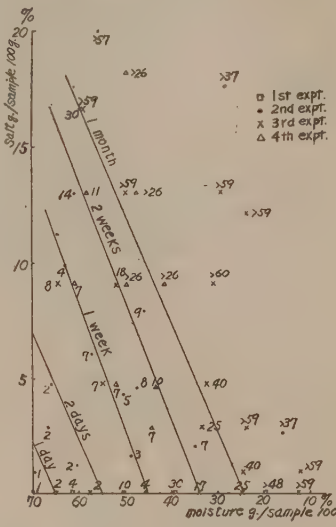


Fig. 7. Showing the preservative days of mackerel meat at 37°C. in various degrees of drying and salting.



第5實驗　サメ肉について

乾燥及び塩藏が魚肉の腐敗に及ぼす影響を知るために、12月19日に漁獲されたアブラツノザメの精肉を挽肉とし、これを湯浴上で種々の程度に乾燥し、更に種々の量の食塩を加えて、下記の53種の試料を作つた。

これらの試料に、1% の加熱しないサメ肉を加え、大型試驗管に入れ、更にPR試驗紙を入れて密栓し、37°C. に保ち、PR試驗紙の赤變期

番號	試料名	含水量	食鹽量	番號	試料名	含水量	食鹽量	番號	試料名	含水量	食鹽量
(1)	75の0	72.6%	—%	(11)	70の0	69.9%	—%	(21)	60の1	55.9%	0.99%
(2)	75の1	71.8	0.99	(12)	70の1	69.2	0.99	(22)	60の3	54.9	2.91
(3)	75の3	70.5	2.91	(13)	70の3	67.8	2.91	(23)	60の5	53.8	4.76
(4)	75の5	69.1	4.76	(14)	70の5	66.5	4.76	(24)	60の7	52.8	6.54
(5)	75の7	67.8	6.54	(15)	70の7	65.4	6.54	(25)	60の10	51.4	9.08
(6)	75の10	66.0	9.08	(16)	70の10	63.5	9.08	(26)	60の15	49.2	13.05
(7)	75の15	63.2	13.05	(17)	70の15	60.8	13.05	(27)	60の20	47.1	16.68
(8)	75の20	60.4	16.68	(18)	70の20	58.3	16.68	(28)	60の25	45.3	20.0
(9)	75の25	58.1	20.0	(19)	70の25	55.9	20.0	(29)	50の0	50.2	—
(10)	75の30	55.8	23.05	(20)	60の0	56.6	—	(30)	50の1	49.6	0.99

(31)	50の3	48.7	2.91	(39)	40の3	39.1	2.91	(47)	30の5	30.1	4.76
(32)	50の5	47.8	4.76	(40)	40の5	38.5	4.76	(48)	30の7	29.5	6.54
(33)	50の7	46.9	6.54	(41)	40の7	37.7	6.54	(49)	30の10	28.7	9.08
(34)	50の10	45.6	9.08	(42)	40の10	36.6	9.08	(50)	20の0	24.7	—
(35)	50の15	43.6	13.05	(43)	40の15	35.0	13.05	(51)	20の1	24.4	0.99
(36)	50の20	41.9	16.68	(44)	30の0	31.6	—	(52)	20の3	24.0	2.91
(37)	40の0	40.3		(45)	30の1	31.2	0.99	(53)	20の5	23.5	4.76
(38)	40の1	39.9	0.99	(46)	30の3	30.7	2.91				

Table 16. The relation between the degree of drying and salting to shark meat and the preservative days. (units: Volatile-N mg%)

No.	samples	moisture%	salt %	salt concentration%	preservative days
1	75, 0	72.6	—	—	1
2	75, 1	71.8	0.99	1.37	1
3	75, 3	70.5	2.91	4.13	2
4	75, 5	69.1	4.76	6.88	2
5	75, 7	67.8	6.54	9.49	2
6	75, 10	66.0	9.08	13.75	6
7	75, 15	63.2	13.05	20.65	10
8	75, 20	60.4	16.68	27.60	more than 65
9	75, 25	58.1	20.0	34.4	more than 65
10	75, 30	55.8	23.05	41.3	more than 65
11	70, 0	69.9	—	—	2
12	70, 1	69.2	0.99	1.43	2
13	70, 3	67.8	2.91	4.28	2
14	70, 5	66.5	4.76	7.15	3
15	70, 7	65.4	6.54	10.0	3
16	70, 10	63.5	9.08	14.3	5
17	70, 15	60.8	13.05	21.5	more than 65
18	70, 20	58.3	16.68	28.5	more than 65
19	70, 25	55.9	20.0	35.7	more than 65
20	60, 0	56.6	—	—	2
21	60, 1	55.9	0.99	1.77	2
22	60, 3	54.9	2.91	5.30	3
23	60, 5	53.8	4.76	8.84	3
24	60, 7	52.8	6.54	12.35	4
25	60, 10	51.4	9.08	17.65	8
26	60, 15	49.2	13.05	26.5	more than 65
27	60, 20	47.1	16.68	35.4	more than 65
28	60, 25	45.3	20.0	44.3	more than 65

日を調べ、第16表及び第9圖のような結果を得た。

以上の結果より、魚肉中の食塩濃度と保藏日數との關係を求め、これを第10圖に示す。

實驗Ⅳの考察：第7圖と9圖、第8圖と10圖とを夫々對比すれば、サバ肉のアンモニア定量によつて腐敗開始期を判定した結果と、サメ肉のアンモニア生成をPR試驗紙の赤變により判定した結果とが、大體一致していることが判る。

第7圖からは、サバ肉を乾燥及び塩藏する際、その程度が大きくなれば保藏日數が大になることが知られる。サメ肉の場合では、變化の期日がサバ肉に比べて早く、乾燥及び塩藏と保藏日數との關係があまり明かでない。一方、サバ肉では腐敗の限界は明かに知られないが、サメ肉では明らかである。即ち、サメ肉のアンモニア生成の限界は第9圖で見られるように、水分35%の點と、食塩12.5%(水分60%のとき)の點とを結んだ線で示される。サメ肉のアンモニア量の增大は、サメ肉の眞の腐敗を意味するものではないが、ここでは假にサメ肉のアンモニア生成の限界線を腐敗の限

Table 16—2 Continued

No.	samples	moisture%	salt %	salt concentration %	preservative days
29	50, 0	50.2	-	—	4
30	50, 1	49.6	0.99	1.99	4
31	50, 3	48.7	2.91	5.97	5
32	50, 5	47.8	4.76	9.95	12
33	50, 7	46.9	6.54	13.92	more than 65
34	50, 10	45.6	9.08	19.2	more than 65
35	50, 15	43.6	13.05	29.9	more than 65
36	50, 20	41.9	16.68	40.0	more than 65
37	40, 0	40.3	—	—	8
38	40, 1	39.9	0.99	2.48	16
39	40, 3	39.1	2.91	7.44	more than 65
40	40, 5	38.5	4.76	12.35	more than 65
41	40, 7	37.7	6.54	17.3	more than 65
42	40, 10	36.6	9.08	24.8	more than 65
43	40, 15	35.0	13.05	37.3	more than 65
44	30, 0	31.6	—	—	more than 65
45	30, 1	31.2	0.99	3.17	more than 65
46	30, 3	30.7	2.91	9.47	more than 65
47	30, 5	30.1	4.76	15.8	more than 65
48	30, 7	29.5	6.54	22.2	more than 65
49	30, 10	28.7	9.08	31.6	more than 65
50	20, 0	24.7	-	—	more than 65
51	20, 1	24.4	0.99	4.06	more than 65
52	20, 3	24.0	2.91	12.1	more than 65
53	20, 5	23.5	4.76	20.2	more than 65

Fig. 9. Showing the preservative days of dog shark meat at 37°C., in various degrees of drying and salting.

Fig 10. Showing the relation between the concentration of salt in dog shark meat and the preservative days.

界線 (The marginal line of putrefaction) と稱することにする。サメ肉の腐敗の限界線はサバ肉の2週間の保藏線と一致するが、サバ肉ではその外1月目で腐敗する線も認めうる。含水量と腐敗の限界については、Ang. Jorns[3] は嫌氣菌の場合では50%、L. Wolf[4] は好氣菌について40%であるとしたが、これらの實驗結果によれば、ホンサバでは約25%、サメ肉では約35%の値が得られた。第16表のサメ肉中の水分量より、腐敗限界水分量（35%）を差引いた水分量に對する食塩濃度を、第17表に示す。これによれば、腐敗の限界に於ては約50%の値を示すことが判る。37°C. では水100c.c. に對して食塩は約

Table 17. The salt concentration to the available water for bacteria and the limit of putrefaction in shark meat at 37°C

2.78	8.3	13.6	19.8	29.3	46.6	65.1	85	115
2.9	8.8	15.1	21.7	31.9	50.6	71.6	95	
4.8	14.6	16.5	38.5	55.4	91.9	137	190	
6.8	29	26.4	59.5	85.6	161	240		
22	71	136	249	567				

: The marginal line of putrefaction.

35.5g 溶ける（35.5%）から上記の50%との差は食塩の水和力と細菌の水分吸收力との差を示すものではなかろうか。

以上實驗 I，II，III及びIVの結果から判斷すれば、種々の狀態のサメ肉のアンモニア生成期と、同じ狀態のサメ以外の魚肉の腐敗期とは完全に一致しないが、大體同じような傾向を示すことが判る。サメ肉のアンモニア生成は、PR 試驗紙の赤變によつても知りうる故、實驗は比較的容易に行いうる。それ故、魚肉腐敗の傾向を知ろうとする場合には、サメ肉を試料としてPR紙の赤變を調べることにより、その目的を達することが出來るであろう。

要　　約

サメ肉及びサメ以外の魚肉を用いて腐敗實驗を行い次の結果を得た。

1. 種々の溫度に於て、尿素含有肉のアンモニア發生期は、然らざるものゝ腐敗臭の發生期よりも稍々早い。

2. 37°C. に於ける魚肉エキスの防腐効果は、サメ肉の場合、トルオール、チモール、クロロホルムで約0.6%、ウマズラハギの場合、トルオールで2.0～4.0%、マダラの場合トルオールで0.4～2.0% であつた。

3. 魚肉を直接防腐する場合サメ及びアジ肉とも同樣にチモールの特異的効果を認めた。

4. 37°C に於けるサメ肉については、乾燥及び塩藏が魚肉の腐敗を略々停止させる程度は夫々水分量35%、食塩量20%であつて、乾燥と塩藏とを併用した場合の腐敗の限界は水分量35%水分量60%のときの食塩量 12.5%とを結んだ線によつて示される。サバ肉にあつてはサメ肉の腐敗の限界線は、その2週間の保藏線と一致する。兩者とも保藏日數は魚肉中の食塩度に比例する。

これらの結果から、魚肉腐敗の傾向を知ろうとする時、サメ肉のアンモニア生成狀態を調べてその結果より判定すればよいことが判つた。

この研究費の一部は文部省科學研究費、一部は北海道廳科學研究費補助金に仰いだ。深甚の謝意を表する。論文作成に際して、本學教授谷川英一博士の助力を得た。記して謝意を表する。

文　　献

(1) 清水　亘・大石圭一（1951）：日本水產學會誌、16 (9)、423.

(2) 大石圭一：未發表

(3) Ang. Jorns (1907)：Arch. f. Hyg., 63, 123

(4) L Wolf (1899)：ibid., 34, 200

（水產科學研究所業績　第117號）

軟体動物特にイカ、タコの食中毒に關する研究

第 1 報　イカ、タコ肉の鮮度低下による化學變化と鮮度鑑定試験について

元 廣 輝 重・谷 川 英 一 (水產食品製造學教室)

STUDIES ON FOOD POISONING OF MOLLUSC ESPECIALLY OF SQUID AND OCTOPUS MEAT.

I. Chemical Change and Freshness Tests of Squid and Octopus Meat during Deterioration of Freshness.

Terushige MOTOHIRO and Eiichi TANIKAWA

(Laboratory of Marine Foods Technology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

Eight kinds of samples were prepared; raw, roasted, boiled and acidulized with vinegar. Samples were separated as from the foot or head with squid and octopus meat. Using these samples, freshness teste were carried out according to certain qualitative and quantitative methods. The results obtained were summarized as follows:

(1) pH values of the sample did not decreased as those of fish meat, but they increased steadily. For all samples, the pH values were initially above 5.8, except octopus in vinegar of which pH value was 4.0.

(2) For all samples, mercuric chloride reaction (Amano's testing method) were both positive in A and B solutions before incipient putrefaction, because the pH values were above 5.8 even if the samples were fresh. Employment of the mercuric chloride reaction method for detection of freshness of mollusc meat, especially squid and octopus is unsuitable.

(3) Eber's reaction was so extremely sensitive for all samples that they reacted positively before incipient putrefaction even where no differences of the freshness could be seen. Thereafter, this reaction is unfit for the freshness detecting.

(4) There were some differences between degrees of turbidity of meat extracts near about the incipient putrefaction and those in fresh state. It is not adequate, however, to determine freshness by means of estimating degrees of turbidity.

(5) Although water-soluble nitrogens for all samples, except octopus with vinegar, steadily increased, no rapid-increasing point could be recognized. For octopus with vinegar, the water-soluble nitrogen showed comparatively significant increasing by its autodigestion, comparing with those of other samples.

(6) Alkali titrating showed a tendency agreeable with pH values. However, it is impossible to use this method as a freshness test, for the values gained were not constant.

(7) For all samples, as for fish meat, the volatile basic nitrogens were 1～10 mg% originally, but 30mg% near about the incipient putrefaction. Thus employing this method is most suitable to determine the freshness of mollusc meat.

軟體動物に依る食中毒の原因としては多くの要素が考えられるが、その中の主要な一因として軟體動物の製品鮮度が外觀的、即ち肉眼的に頗る判別し難いことが擧げられる。從つて若し軟體動物に對する鮮度鑑定法が確立されれば、之に依る食中毒の危險率は可成り輕減されるであろう。然るに從來、魚介肉の新鮮度鑑定法には多數の報告が見受けられるに拘らず、その大部分は魚肉のみを對象として居り、軟體動物特にイカ及びタコに就いての鮮度鑑定を行つた事例は稀である。惟うにイカ、タコ等の軟體動物は一般魚類に比し判然と異つた筋肉組織を有するものであり、從つてそれを構成する肉蛋白の性狀にも差異を有するものではなかろうか。それ故イカ肉の鮮度低下即ち肉蛋白が分解する際に、その分解速度、分解機構等は魚類のそれとは幾分異つている如く考えられる。事實、近時天野氏は水產食品鮮度判定の化學的研究を行い昇汞による沈澱反應により魚介肉の鮮度を檢定せんとした。然るに試料としたイカ肉は新鮮時に於ても昇汞との反應性を有する特殊な含窒素物を溶出し、又腐敗の進行に伴い他の魚類と同樣に低分子化合物が昇汞と反應することになり昇汞反應を適用することは困難であるとした(1)。而るに一方北海道水產試驗場に於てスルメイカ肉氷藏試驗を行つたが、その際一般魚肉と同樣にイカ肉の揮發性塩基窒素量が30mg% 近邊に於て初期腐敗の徵候を示すことを報告している(2)。斯の如く軟體動物の鮮度鑑定法には未だ適切なる新方法が考案されていない現狀にあり、而かも上記の如く鮮度鑑定は緊要事なるを以て著者等は先づイカ、タコ肉の鮮度を低下せしめその際に於ける化學變化を見、且つ在來魚肉に對し適用されて來た方法に依りイカ、タコ肉及びそれらの製品鮮度鑑定試驗を行い、最も適切なる方法を決定せんとした。尙此の際、採用した鑑定法は煩雜な操作、裝置及び熟達せる技術等を要する如き方法は可及的之を避け、專ら實用的な方法によつた。

實驗の部

1. 試料の調製

實驗に用いたイカは昭和25年8月下旬、函館沖にて漁獲されたスルメイカ（朝イカ）の良好なる鮮度のものを實驗室に持ち歸り、直ちに內臟を除去し、胴肉部と脚肉部を殺菌水にて洗滌し、(1)新鮮肉のまゝのもの、(2)焙燒したもの、(3)煮熟したものゝ3區に大別した。新鮮肉はそのまゝ、滅菌乳鉢、及び Blendor を以て糊泥狀となるまで攪拌混和し、焙燒肉は炭火により充分焙燒した後、上記と同樣にして處理し、又煮熟肉試料にあつては水を以て40分間煮沸を繼續し、次いで細挫した。之等を恒溫器（30°C）中に放置し任意の經過時間毎に試料を採取してその鮮度を測定した。

タコの場合は同年9月上旬、市場より購入せるミズダコを試料となした。此の試料は未だ生きた狀態にあり、その鮮度は極めて良好であつた。之を實驗室內にて處理し、頭部と脚部に分ち、更に夫々を新鮮肉及び煮ダコの試料として分取した。此の際煮ダコの煮沸時間は50分とした。又脚部のみを以て常法により酢ダコを作り、pH 2.2 の 4% 醋酸溶液中に浸漬した。酢ダコ試料は製造後15日間室溫（20°C）に放置した後、酢の中より取り出し、濾紙にて表面の醋酸溶液を拭き取り、乳鉢及び blendor を以て細挫し、容器中に入れ、恒溫器（30°C）中に放置した。

2. 實驗方法

試料調製時を0時間として各一定時間毎に試料を取り出し、下記の如き項目毎に測定した。

(1)水分…通常法によつた。即ち試料を秤量管に秤量後、95°C～100°C の乾燥器內に放置し、恒量値より水分量を計算した。

(2)揮發性塩基窒素量…Weber and Wilson 法により測定した。即ち試料採取量は20gm とし、重湯煎の溫度を45°C となし、アルカリ劑として10% $K_2C_2O_4$ 25c.c、15% K_2CO_3 25c.c を混合して用いた。眞空度は140mm. Hg とし、40分間蒸溜した後 N/10 NaOH を以て滴定した。

(3)水溶性窒素…試料 10gm を採り水を加えて 100c.c となし、40分間浸出後、東洋濾紙 No. 5C を用いて濾過し、濾液10c.cにつき常法に從い、Micro kjeldahl 法によつて硫酸分解を行い窒素の蒸溜を行つた。

(4)全窒素…試料 0.5gm に就き Micro Kjeldahl 法によつて分解し、次いで蒸溜した。

(5)pH…東洋濾紙製 pH 比色試驗紙により測定した。

(6)W氏反應…上記の如き水溶性窒素測定に用いた10倍浸出液につき W. Walkiweisz [3] 法を實施した。判定は天野[4]氏の標示法に從つた。

(7)Eber 反應… Eber's reagent を試驗管に注入し、之に試料の小片を垂下し、試驗管中の試藥面に對し 0.5cm の高さを保たしめる。その際生ずる NH_4Cl の白煙の有無により判定した。即ち白煙を生ぜぬ場合を(−)、微量の場合を(±)、明らかに認められる場合を(+)とした。

(8)溷濁度…上記の10倍浸出液について肉眼的に觀察を行つた。

(9)滴定アルカリ度…N/10 H_2SO_4 を以て上記の10倍浸出についてその中和に要する滴定數を求め100c.c當りに換算した。指示藥として Methylen-blue 及び Methyl-red の混合指示藥を用いた。

(10)細菌數…試料 1gm につき、10進稀釋平板培養法により生菌數を求めた。

3. 實 驗 結 果

上記の如き方法により測定し、得られた結果は第1表～第14表及び第1圖～第9圖に示す如くである。即ち第1圖は各種イカ肉試料の pH 及び水分の變化を示し、第2圖は揮發性塩基窒素量及びその全窒素に對する百分率の變化を示す。第3圖は可溶性窒素及びその全窒素に對する百分率の變化を示し、第4圖は揮發性塩基窒素量の可溶性窒素に對する百分率の變化及び乾物に對する可溶性窒素量の變化を示した。第5圖は各種イカ肉試料の細菌數の變化である。第6圖より第9圖までは各種處理を施したタコ肉試料の部位別の變化であるが、第6圖に於ては揮發性塩基窒素量の變化を示し、第7圖は pH の變化である。第8圖は可溶性窒素量の變化であり、第9圖は細菌數の變化を示した。

(1) イ カ の 場 合

(i) 生イカを供試料となした際には、揮發性塩基窒素量は放置後8時間目に於て 31.30mg% に達した。此の際肉眼的に見て僅かに腐敗臭を感ずる程度であるが、10時間目の放置では揮發性塩基窒素量は 35.49mg% に達し此の段階では外觀的に明らかに腐敗と認知された。總窒素量は時間的變化が認められず、水溶性窒素量は放置時間の經過に伴い漸次增加する。昇汞反應も8時間目まではA液は＋、B液は±であつたが、それ以後はA液では＋＋、B液は＋となり、更に12時間以後はA、B兩液共に＋＋を示した。Eber 反應も0時間より反應が認められたが、10時間目以後は顯著であつた。細菌數の變化は6時間迄は漸次增加の傾向を辿り、8時間以後は急增する如くである。pH は2時間目に於て一般魚類に見受けられる如く、一旦低下するが後に再び增加する。殊に揮發性塩基窒素量の激增に伴い、飛躍的に增加する。

(ii) 煮イカを供試料となした場合に揮發性塩基窒素量は11時間目までは漸次增加の傾向を示したが、13時間目は 32.53mg% であり、それ以後は急激に增加した。他の鮮度判定の反應は生イカの場合と略々同樣であつた。

(iii) 燒イカを供試料となした場合も揮發性塩基窒素量は處理後、6時間目までは漸次增加し、そ

Table 1. Change of nitrogen of raw squid meat during putrefaction.

Time elapsed (in hrs.)	Water contents %	Total-N		Volatile basic-N (mg%)	Soluble-N		Volatile-N / Total-N ×100	Soluble-N / Total-N ×100	Volatile-N / Soluble-N ×100
		% (Based on original)	% in dry-matter		% (Based on original)	% in dry-matter			
0	75.75	3.32	13.69	1.99	1.17	4.82	0.06	35.12	1.7
2	—	3.28	—	2.07	0.62	—	0.06	18.78	3.2
4	75.70	3.09	12.71	3.02	0.89	3.66	0.10	28.83	3.4
6	—	2.93	—	4.31	0.80	—	0.15	27.20	5.4
8	75.91	3.44	14.28	31.30	0.84	3.49	0.91	24.50	3.7
10	—	3.31	—	35.49	0.80	—	1.07	24.10	4.4
12	76.28	3.39	14.29	43.20	0.85	3.58	1.27	24.90	5.1
14	—	3.21	—	53.95	0.59	—	1.67	18.30	9.1
16	76.77	3.26	14.03	136.97	1.16	4.98	4.20	35.40	11.8
20	—	3.15	—	141.07	1.13	—	4.47	36.00	12.4
22	76.91	3·24	14.03	—	—	—	—	—	—

Table 2. Change of nitrogen of boiled squid meat during putrefaction.

Time elapsed (in hrs.)	Water contents %	Total-N		Volatile basic-N (mg%)	Soluble-N		Volatile-N / Total-N ×100	Soluble-N / Total-N ×100	Volatile-N / Soluble-N ×100
		% (Based on original)	% in dry-matter		% (Based on original)	% in dry-matter			
0	73.2	3.79	14.12	19.34	0.56	2.18	0.51	14.85	3.44
2	—	3.77	—	20.16	0.88		0.54	23.40	2.28
4	71.2	3.78	13.12	27.62	0.99	3.50	0.73	26.10	2.80
6	71.4	4.14	14.45	25.78	1.19	4.15	0.62	28.70	2.17
8	—	3.81	—	20.85	0.60		0.55	15.80	3.47
11	70.2	3.96	14.25	24.75	0.67	2.42	0.63	16.90	3.70
13	68.9	3.88	12.48	32.53	0.71	2.29	0.84	18.34	4.56
17	68.2	3.89	12.22	49.76	0.88	2.76	1.28	22.62	5.65
19	—	4.01	—	59.22	0.85	—	1.48	21.15	6.99
21	72.5	3.79	13.79	82.87	0.72	2.62	2.18	19...	11.50

Table 3. Change of nitrogen of rosted squid meat during putrefaction.

Time elapsed (after roasting)	Water content %	Total-N		Volatile basic nitrogen (mg %)	Soluble-N		Volatile-N / Total-N ×100	Soluble-N / Total-N ×100	Volatile-N / Soluble-N ×100
		% (Based on original)	% in dry-matter		% (Based on original)	% in dry-matter			
0	70.93	4.51	15.51	3.10	—	—	0.07	—	—
2	79.87	4.15	14.25	3.59	0.97	3.33	0.09	23.37	0.37
4	—	4.05	—	14.59	0.94		0.36	23.21	1.55
6	70.23	4.26	14.31	14.92	0.91	3.06	0.35	21.36	1.54
8	70.67	4.02	13.48	7.20	0.79	2.65	0.18	19.65	0.91
10	70.13	4.32	14.43	4.76	0.78	2.61	0.11	18.06	0.61
12	—	4.51	—	1.74	0.87	2.61	0.04	19.29	0.20
14	—	4.17	—	5.92	—	—	0.14	—	—
20	70.83	4.11	13.75	29.19	0.94	3.22	0.71	22.87	3.11
22	71.28	4.15	14.45	41.15	1.12	3.90	0.99	26.99	3.67
24	70.46	4.51	15.27	128.83	1.10	3.72	2.86	24.39	11.71

Table 4. Freshness test and change of bacterial growth of raw squid meat during putrefaction.

Time elapsed	pH of extract soln.	Hg-reaction A soln.	Hg-reaction B soln.	Eber's reaction	Turbidity of extract soln.	c.c of N/10 H_2SO_4 per 100c.c of extract soln.	colony counts
0	6.4 (M. R)	+	±	±	−	3.17	118×10^3
2	5.9 (〃)	+	±	±	−	3.88	4×10^3
4	6.0 (〃)	+	±	+	−	4.41	2.9×10^3
6	6.0 (〃)	+	±	+	±	4.06	10×10^3
8	6.1 (〃)	++	+	+	+	7.41	130×10^3
10	6.4 (B.C.P)	++	+	++	+	9.70	360×10^4
12	6.8 (〃)	++	++	++	+	10.58	600×10^4
14	6.9 (〃)	++	++	++	++	12.80	130×10^5
16	7.2 (B.T.B)	++	++	++	++	11.82	250×10^5
20	7.8 (P. R)	++	++	++	++	17.64	400×10^5
22	8.0 (C. R)	++	++	++	++	−	

Table 5. Freshness test and change of bacterial growth of boiled squid meat during putrefaction.

Time elapsed (after boiling)	pH of extract soln.	Hg-reaction A soln.	Hg-reaction B soln.	Eber's reaction	Turbidity of extract soln.	c.c of N/10 H_2SO_4 per 100c.c of extract soln.	Colony counts
0	5.8	±	±	±	−	2.6	0.77×10^3
2	6.1	±	±	+	−	2.6	11×10^3
4	6.1	±	±	+	−	2.8	−
6	6.2	±	±	+	−	2.9	15×10^3
8	6.2	±	±	+	±	3.1	31×10^4
11	6.2	+	±	+	±	4.6	84×10^5
13	6.4	+	+	++	+	5.3	−
17	6.8	++	++	++	+		−
19	7.8	++	++	++	+	11.9	384×10^6
21	8.2	++	++	++	++	15.4	80×10^6

Table 6. Freshness test and change of bacterial growth of roasted squid meat during putrefaction.

Time elapsed (after roasting)	pH of extract soln.	Hg-reaction A soln.	Hg-reaction B soln.	Eber's reaction	Turbidity of extract soln.	c.c of N/10 H_2SO_4 per 100c.c of extract soln.	Colony counts
0	6.0 (M. R)	+	±	±	±	4.4	1.2×10^3
2	6.0 (〃)	+	±	±	±	3.1	1.4×10^3
4	6.2 (〃)	+	±	±	±	2.6	−
6	6.2 (〃)	+	±	±	±	1.5	3×10^3
8	6.2 (〃)	+	±	+	+	2.8	$18.\times10^3$
10	6.2 (〃)	+	±	+	+	1.8	−
12	6.2 (〃)	+	±	+	++	2.6	76×10^4
14	6.2 (〃)	+	±	+	++	2.8	85×10^5
20	6.8 (B.C.P)	+	+	++	++	5.2	15×10^6
22	7.0 (C. R)	+	+	++	++	2.6	70×10^6
24	7.2 (〃)	+	+	++	++	2.6	40×10^6

Table 7. Change of total nitrogen of octopus meat during putrefaction.

Items \ Time	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	26	28
Raw head	3.53	3.33	3.01	3.50	3.21	3.46	—	3.31	3.06	3.10	2.89	2.78	2.74
Raw foot	3.75	3.57	3.47	3.17	3.78	3.67	—	3.51	3.74	3.52	3.62	3.41	3.12
Boiled head	3.62	3.45	3.50	—	3.27	—	3.34	3.21	3.44	—	3.00	2.92	2.90
Boiled foot	3.01	2.97	—	3.11	3.15	2.88	2.89	2.99	—	3.12	3.34	3.11	3.00
With vinegar	3.45	3.44	3.40	3.44	3.41	—	3.71	3.60	3.51	—	3.74	—	3.21

Table 8. Change of soluble nitrogen of octopus meat during putrefaction.

Items \ Time	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	26	28
Raw head	0.30	0.34	0.41	0.44	0.46	—	0.55	—	0.74	0.81	0.85	0.94	1.20
Raw foot	0.33	0.40	0.44	0.47	0.56	—	0.62	0.68	—	0.74	-	0.89	0.98
Boiled head	0.25	0.26	0.35	0.46	0.51	—	0.60	0.66	—	0.72	—	0.83	0.90
Boiled foot	0.31	0.36	—	—	0.50	—	0.58	—	0.64	0.67	—	0.78	2.89
With vinegar	0.39	0.42	0.47	0.50	0.53	—	0.61	0.66	0.91	0.74	0.75	0.77	0.86

Table 9. Change of the pH value of octopus meat during putrefaction.

Items \ Time	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	26	28
Raw head	5.8	6.0	6.2	6.2	6.3	6.3	6.4	6.6	6.8	6.8	6.8	6.9	7.0
Raw foot	5.8	5.9	6.1	6.2	6.3	6.3	6.3	6.4	6.6	6.8	6.8	7.0	7.0
Boiled head	5.8	5.9	6.0	6.2	6.3	6.3	6.4	6.4	6.6	6.6	6.7	6.8	6.8
Boiled foot	5.9	6.0	6.0	6.2	6.2	6.3	6.4	6.4	6.6	6.6	6.6	6.8	6.8
With vinegar	4.0	4.0	4.0	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.2	4.2	4.2	4.2	4.4

Table 10. Change of volatile basic nitrogen of octopus meat during putrefaction.

Items \ Time	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	26	28
Raw head	3.87	4.00	10.00	20.10	22.56	25.04	28.72	30.01	32.74	34.16	47.61	50.14	54.21
Raw foot	3.16	6.01	19.34	23.30	25.22	29.47	34.79	36.01	38.00	38.80	50.92	58.94	60.11
Boiled head	4.00	9.95	10.11	20.34	20.61	22.40	26.41	29.97	30.07	30.13	32.03	42.97	5..61
Boiled foot	3.93	5.88	7.09	19.01	19.34	26.36	28.74	29.14	30.50	32.58	35.45	47.60	53.44
With vinegar	3.01	3.24	4.41	4.50	4.82	4.74	5.76	5.78	5.86	5.87	5.75	6.44	8.10

Table 11. Change of soluble-N/Total-N × 100 of octopus meat during putrefaction.

Items \ Time	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	26	28
Raw head	8.58	10.21	13.14	12.51	14.31	—	—	—	24.8	26.7	29.4	33.8	43.8
Raw foot	8.81	11.2	12.68	14.83	14.83	-	—	19.37	—	21.15	—	26.5	31.41
Boiled head	6.91	7.54	—	—	15.59	—	17.95	20.56	—	—	—	28.41	31.07
Boiled foot	10.3	12.12	—	—	15.86	—	20.25	—	—	21.45	-	25.4	29.65
With vinegar	11.3	12.41	13.42	14.52	15.54	—	16.43	18.34	20.1	—	20.0	—	24.93

Table 12. Change of bacterial counts of octopus meat during putrefaction.

Items \ Time	0	2	6	8	10	12	14	16	18	20	26	28
Raw head	65×10^3	85×10^3	90×10^3	180×10^3	600×10^3	150×10^4	Diffused	Diffused	310×10^4	390×10^4	—	—	—
Raw foot	59×10^3	62×10^3	71×10^3	210×10^3	610×10^3	990×10^3	110×10^4	Diffused	230×10^4	370×10^4	—	—	—
Boiled head	36×10^3	47×10^3	90×10^3	310×10^3	540×10^3	540×10^3	220×10^4	270×10^4	310×10^4	Diffused	—	—	—
Boiled foot	31×13^3	48×10^3	55×10^3	57×10^3	670×10^3	800×10^3	310×10^4	390×10^4	480×10^3	870×10^4	—	—	—

Note: Did not measured for octopus with vinegar.

Table 13. Freshness test of octopus meat during putrefaction.

Time elapsed	Raw head				Raw foot			
	Turbidity of extract soln.	Eber's reaction	Hg-reaction		Turbidity of extract soln.	Eber's reaction	Hg-reaction	
			A	B			A	B
0	−	±	+	±	−	±	±	±
2	−	+	+	±	−	+	±	±
4	−	+	+	+	−	+	+	±
6	−	+	+	+	−	+	+	±
8	−	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+
12	+	+	+	+	+	+	+	+
14	++	+	+	+	++	++	+	+
16	++	+	+	+	++	+	+	+
18	++	+	+	+	++	++	+	+
20	++	++	+	+	++	++	+	+
26	++	++	+	+	++	++	+	+
28	++	++	+	+	++	++	+	+

Table 14. Freshness test of boiled octopus meat and with vinegar meat.

Time elapsed	Boiled head				Boiled foot				With vinegar			
	Turbidity of extract soln.	Eber's reaction	Hg-reaction A	Hg-reaction B	Turbidity of extract soln.	Eber's reaction	Hg-reaction A	Hg-reaction B	Turbidity of extract soln.	Eber's reaction	Hg-reaction A	Hg-reaction B
0	−	±	+	±	−	±	±	±	−	−	−	−
2	−	±	+	±	−	±	+	±	−	−	−	−
4	−	±	+	+	−	+	+	+	−	−	−	−
6	−	±	+	+	−	+	+	+	−	−	−	−
8	−	±	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
10	+	±	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
12	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
14	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
16	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
18	++	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
20	++	++	+	+	++	+	+	+	−	−	−	−
26	++	++	+	+	++	++	+	+	−	−	−	−
28	++	++	+	+	++	++	+	+	−	−	−	−

Fig. 1. Change of pH values and moisture of squid meat during putrefaction.

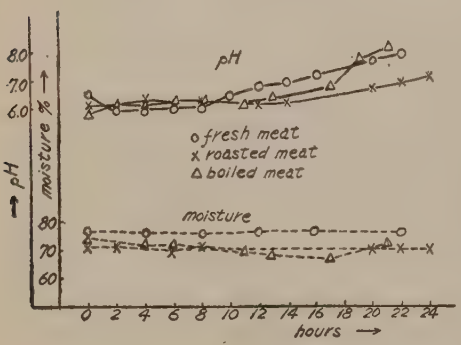


Fig. 2. Change of the amount of volatile basic nitrogen and volatile basic-N/Total-N × 100 of squid meat.

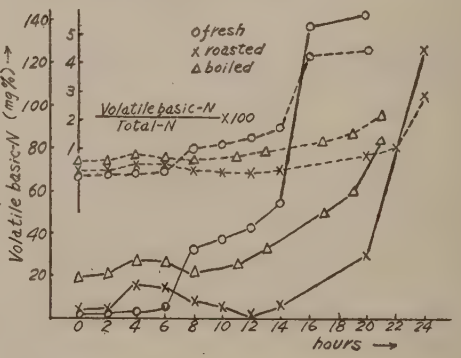


Fig. 3. Change of soluble nitrogen and soluble-N/Total-N × 100 of squid meat.

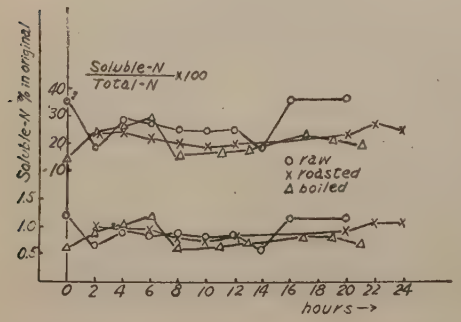


Fig. 4. Change of soluble nitrogen per dry matter and volatile baisc-N/Soluble-N × 100 of squid meat.

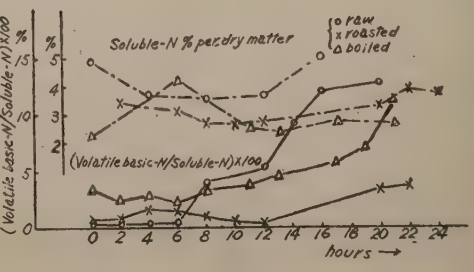


Fig. 5. Change of bacterial growth of squid meat during putrefaction.

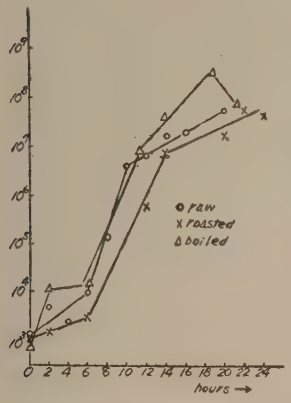


Fig. 6. Change of the amount of volatile basic nitrogen of octopus meat during putrefaction.

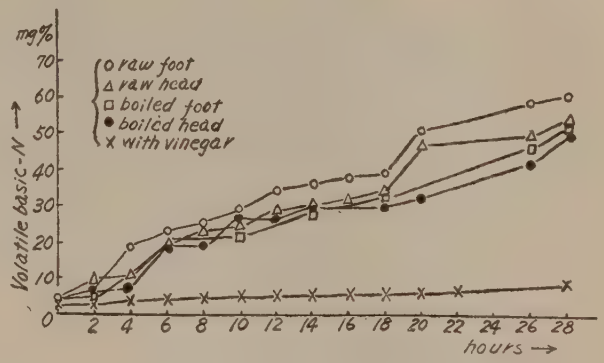


Fig. 7. Change of the pH value of octopus meat during putrefaction.

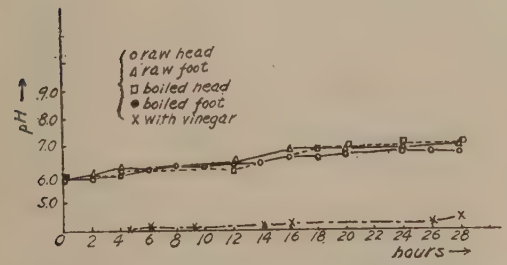


Fig. 8. Change of soluble nitrogen of octopus meat during putrefaction.

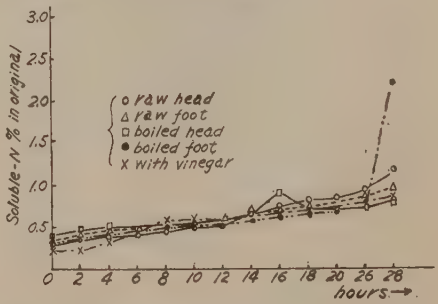
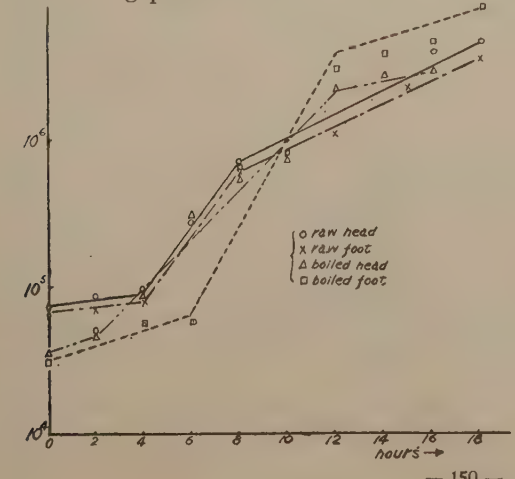


Fig. 9. Change of bacterial growth of octopus meat during putrefaction.



れ以後再び減少する如くであり、14時間目では5.92mg%であつた。然るにそれ以後は更に再び激増し、20時間目では29.19mg%、22時間目では41.15mg%であつた。水溶性窒素量は上記二試料の如く増加の傾向を認めた。昇汞反應は14時間目迄は何れもA液は＋B液は±の判定となつたが、20時間よりは兩液共に＋となつた。Eber反應も20時間目以後は顯著に認められた。又細菌數は14時間目附近より激增する如く見受けられた。

(2) タコの場合

(i) 生肉頭部を供試料となした場合に

揮發性塩基窒素量は比較的緩慢な増加を示した。而して10時間目に於ては25.04mg%、12時間目では28.72mg% であつたが、外觀的に此の附近より稍々腐敗の徴候を示した。一方細菌數をみるに（12時間目は擴散したが）10時間目附近より激増の傾向を示した。又溷濁度は8時間目までは陰性であつたが、10時間目より反應が認められ、14時間目以後は顯著であつた。Eber 反應は0時間目より反應が認められたが以後18時間目まで同樣の傾向を有し、20時間目以後に至つて顯著に認められた。昇汞反應は2時間目まではA液は＋、B液は±であつたが、4時間目以後はA，B兩液共に＋となつた。水溶性窒素量は時間の經過に伴い漸次増加する如くであつた。pH はイカ及び一般魚肉の新鮮肉に見られる如く、一旦低下することなく直ちに増加の傾向を示した。

(ii) 生肉脚部に於ても頭部と略々同樣な結果を示した。即ち8時間目の揮發性塩基窒素量は25.22mg% であり、10時間目のものは29.47mg% であつたが、外觀的に稍々腐敗の徴候を示した。12時間目は34.79mg% であつたが、それ以後は完全に腐敗と認められた。溷濁度は6時間目までは陰性であつたが、8時間目より溷濁が認められ16時間目以後は顯著であつた。Eber 反應も0時間目は頭部と同じく±であつたが、2時間目以後は明らかに認められ、16時間目以後は顯著となつた。又昇汞反應は0時間目及び2時間目はA，B兩液共に±であつたが、4時間目はA液は＋、B液は±となつた。細菌數は10時間目近邊迄は漸次増加し12時間目より急激に増加せるものゝ如くであつた。

(iii) 煮タコ頭部に於ては揮發性塩基窒素量は上記の如き無處理のまゝ放置した試料と同樣な傾向を辿り、比較的緩慢な増加を示した。而して12時間目附近では26.41mg% を示し、外觀的に腐敗の徴候を示した。又16時間目では30.07mg% であつたが、充分に腐敗せるを認めた。pH は12時間目に於いて6.4 を示し以後經過時間と共に増加した。可溶性窒素も亦上記試料と略々同樣に漸次増加するを認めた。溷濁度は放置後8時間目までは陰性であつたが10時間目以後は溷濁し、18時間目以後は顯著に認められた。Eber 反應も溷濁度と略々同樣であり、10時間目までは±であつたが12時間目以後は＋となり20時間目以後は＋＋となつた。昇汞反應は2時間目まではA液は＋、B液は±であつたが、4時間目以後は A，B兩液共に＋と判定された。又細菌數の變化も4時間目より8時間目までに激増する如くであり、それ以後は緩慢な増加を續けた。

(iv) 煮イカの脚部を供試料としたものにあつては揮發性塩基窒素量、pH，溷濁度、Eber 反應、細菌數、昇汞反應等何れも頭部に就き認められた結果と同樣な傾向を示した。

(v) 酢ダコを供試料とした場合は上記各種試料と全く異なつた結果を示し、揮發性塩基窒素量は放置時間0時間目に於いて3.01mg% を示したのに對し、28時間經過後にあつては8.10mg% であり、極めて僅少な増加をしたのみである。又その他の反應も他の試料と異なり溷濁度、Eber 反應、昇汞反應等何れも陰性であつた。

以上の如く30°C においてイカを試料とした場合には生イカでは8時間目、煮イカの場合は13時間目、燒イカの場合は20時間目附近が初期腐敗の如く見受けられた。又タコを試料となした場合は頭部では10～12時間目、脚部では8時間目、煮ダコの頭部は12時間目、脚部では12～14時間目が初期腐敗と思われた。酢ダコでは28時間以内では腐敗現象を認めることが出來なかつた。尙イカの場合は腐敗の進行に伴い色調が赤變し、嘔吐を催すような惡臭を發するに至るが、タコの場合では褐色味を帶びて赤變し、腐敗臭は呈するが吐氣を催す如き惡臭は感ぜられなかつた。又酢ダコは酢の作用のため腐敗臭は全く無く、たゞ20時間目附近より赤黄色に變色したのみである。

考　　察

1. 各試料の腐敗過程中に於ける揮發性塩基窒素量と經過時間との關係

生イカ、焙燒イカ、煮熟イカ、生タコ頭部及び脚部、煮熟タコ頭部、脚部及び酢ダコの8種類の試料に就いて揮發性塩基窒素量を測定した結果は上述の如くであるが、之等の增加率は必ずしも一定していない。即ちイカを試料とした場合は、生イカが最も速かに腐敗し、煮熟イカ、焙燒イカが之に次いでいる。これは煮熟及び焙燒せる試料は加熱により自己消化酵素の破壞及び腐敗細菌の死滅等により時間的な差異を生ずるものと考えられる。タコの場合は部位別にみて揮發性塩基窒素の發生量は大差ない如くであるが、生鮮なものと煮熟せるものとではイカの場合と同樣に煮熟試料が時間的に遲れている。而して此の理由はイカの場合と同一なものであろう。

2. 各種鮮度鑑定法の比較

(1) pHは魚類の場合と異なり一旦減少することなく漸次增加し、遂にはアルカリ性となるが此の際pHの變化の範圍は6.0～7.2であり初期腐敗にあつては概して6.4～6.8の範圍である。又斯樣な値は腐敗後も可成り長時間に亘つて認められる故初期腐敗の限度を判然と見極めることは困難であり、pHのみを以て鮮度鑑定を行うことは危險である。

(2) 昇汞反應は天野[5]氏の述べた如くpH 5.8 以上のものにあつては可溶性窒素特にグロブリン態窒素量が多量に存在するためHg⁺⁺と斯樣な蛋白とが反應し、試料が新鮮時にあつても反應が陽性となる。又 0.05% 醋酸々性としたB液を併用しても初期腐敗以前に既に反應が認められ簡易な方法ではあるが本法をイカ、タコの鮮度鑑定に用いることは適していない樣である。

(3) Eber 反應は極めて銳敏な反應ではあるが、その程度が極度に敏感であるため初期腐敗以前に反應が陽性となり、又初期腐敗時に於いてもその前後に於ける反應と大差がない故、判定が困難であり鮮度鑑定には不適當である。

(4) 滴定アルカリ度も實驗結果に見られる如く一定の値を示さず、從つて本法を鮮度鑑定に用いることは出來ない。

(5) 揮發性塩基窒素量は一般魚類に於けるものと略々同樣な傾向を示し30mg% 附近に於いて初期腐敗に迄することを認めた。即ち外觀的にみて30mg% 前後に於いては僅かに腐敗の徵候を認め得るが、時間の經過に伴い40mg% 附近に於ては明らかに腐敗の狀態にあり、それ故軟體動物特にイカ、タコに於いても30.ng% が初期腐敗と解される。尙揮發性塩基窒素量を測定すれば判然と腐敗初期を認知することが可能であり、在來よりの鮮度鑑定法で軟體動物にも適用され得るものは揮發性塩基窒素量の測定であると考えられる。

(6) 細菌數も揮發性塩基窒素量の增加率と略々平行して對數的に增加し鮮度鑑定に適用することは出來るが判定を得るまでに長時間を要し、此の點不便である。

尙酢ダコに就いては用いた食酢中の醋酸には可成りの防腐殺菌力を有し[6]、又魚類を酢漬けとした場合には主として自己消化酵素の作用を受け[7]、又 pH 5.0 以下では急激な變化はない[8]と報告されているが、本實驗の場合もpH 4.4 以下では特に著しい變化はなくたゞ20時間目附近より黃赤色に變色したのみで腐敗初期の徵候は認められなかつた。可溶性窒素量が增加したのは自己消化酵素の作用に依るものであろう。又可溶性窒素量が他の試料と比較して凡そ同程度に存在していたに拘らず昇汞反應がA, B兩液共に－であつたのはpHが4.4 以下であつた爲めと思われる。

要　　約

イカ、タコを鮮肉のまゝ焙焼せるもの、煮熟せるもの、酢漬けとせるもの等の部位別の8種類の試料を調製し、鮮度鑑定試験を行つた。得られた結果は次の如く要約される。

(1) pH は殆んど減少することなく、徐々に増加の傾向を示し、最初より何れも5.8以上であつた。但し酢ダコにあつては4.0であつた。

(2) 昇汞反應は何れも新鮮時に於てpHが5.8以上である爲め、腐敗初期以前に既にA，B兩液共に反應が認められた。即ち昇汞反應による鮮度鑑定法は軟體動物特にイカ、タコ肉の鮮度を判定するには不適當である。

(3) Eber 反應も同様に極度に鋭敏であり腐敗初期以前に陽性となり、腐敗初期近邊で著しい反應差を認めることが出來ず鑑定法としては不適當である。

(4) 溷濁度は大體腐敗初期附近に於いて其の濾液の溷濁度に差が認められるが鑑定法としては不完全である。

(5) 可溶性窒素量は漸次增加しているが、特に著しい增加を示す點を認める事は出來なかつた。又酢ダコの場合は自己消化のため、他の測定値に比し、可溶性窒素量の增加は比較的著しかつた。

(6) 滴定アルカリ度は略々pHと一致した傾向を示したが不定であり、鑑定法として用いる事が出來ない。

(7) 揮發性塩基窒素量は魚類の場合と同様に最初は 1～10mg% であるが腐敗初期では 30mg %に達し鮮度鑑定法として最も適當であることが判明した。

文　　献

(1) 天野：水產食品鮮度判定の化學的研究、1950.
(2) 赤坂，渡邊：北水試旬報，597，3，昭和18年
(3) W. Walkiweisz：Z. f. Fleish u. Milehhyg, 46, 171～174, 1936.
(4) 天野，內山：日水試，14，4，165，1949.
(5) 天野，內山：日水試，14，1，48，1948.
(6) 鐵本：日水試，1，5，230，1932.
(7) 永田，野口：日水試，2，3，121，1933.
(8) 野口，尾藤：日水試，14，5，237，1949.

（水產科學研究所業績　第119號）

軟体動物特にイカ、タコの食中毒に關する研究

第 2 報　イカ肉腐敗過程中に於けるアミン類の消長について

元 廣 輝 重・谷 川 英 一　(水產食品製造學教室)

STUDIES ON FOOD POISONING OF MOLLUSC ESPECIALLY OF SQUID AND OCTOPUS MEAT.

Ⅱ. Prosperity and Decline of Amines during Putrefaction of Squid Meat.

Terushige MOTOHIRO and Eiichi TANIKAWA

(Laboratory of Marine Foods Technology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

When the samples prepared, raw, roasted, boiled and vinegarized were left under aerobic or anaerobic conditions, the increase and decline of ptomaines produced were detected by paper chromatography where determining the volatile basic nitrogen is employed as the standarized freshness test. On the other hand, in order to investigate the poisonous properties and symptoms of poisoned animals, an examination of the animal test by feeding with those samples was made parallel to above stated experiments.

The results obtained were summarized as follows:

(1) When the samples were putrefied under either aerobic or anaerobic conditions, the course of decomposition of protein which was gained by the authors was different from Yamada's result.[1] Under aerobic condition, the samples were rather more rapidly putrefied than those under anaerobic. Reversely the degree of decomposition of protein under anaerobic putrefaction was much greater than that under aerobic.

Comparing the kinds of samples, volatile basic nitrogen from raw squid meat has more rapidly increased than was the case with other samples. For roasted squid meat, the amounts of volatile basic nitrogen have not so rapidly increased as in raw meat, and in boiled squid meat, most slowly. These facts are due to some such reason as the differences in the respective processings. That is to say, for processed squid meat, putrefactive bacteria were sterilized and autodigestible enzymes were decomposed by the roasting or boiling. Further, long periods are needed to decompose the tissues through growth of bacteria.

(2) In determining the relation between the amounts of volatile basic nitrogen and the increase and decline of ptomaines, for all samples except those prepared with vinegar, it was found that before rapid increasing of volatile basic nitrogen, histamine and arcaine have appeared. Other ptomaines have appeared at about the time of in connection with incipient putrefaction. Ptomaines recognized by paper chromatography were histamine, arcaine, tryptamine, tyramine, agmatine, ornithine, cadaverine, putrescine, indol and skatol. In the anaerobic putrefaction of raw squid meat, indol was recognized. It was immediately before incipient putrefaction that indol appeared. This is quite in agreement with Clough's results reported on salmon[2].

(3) As to the results of determination by animal assay of cause of poisoning and physiological effects of produced ptomaine, it was found that the animals have died after having presented symptoms through vomiting, diahrroea, clonic and tonic cramp

successively. This fact was in agreement with Takase's description.[3] From this face the authors have considered that some of the cause of death of tested animals were due to the toxic substances (e. g. enterotoxine) produced by bacteria. For squid with vinegar the rate of increase of the amounts of volatile basic nitrogen showed very low. However, ptomaine has been produced after leaving 48 hours in summer. It is difficult and dangerous to decide the degree of putrefaction by organoleptic tests. When the samples containing above 50mg% of the amounts of volatile basic nitrogen, were given to animals, their intestines were swollen with replete gas.

魚介肉を放置する際、その構成成分たる肉蛋白は腐敗細菌の作用を受け時日の経過に伴つて漸次低分子の物質に分解せられ、遂にメタン、硫化水素等を發生するに至るのであるが、この分解過程中細菌の脱炭酸酵素によりアミノ酸のカルボキシル基脱離によつてそのアミノ酸に相當するアミンが生成することは現在迄に多數報告されている。曩に著者等はイカ肉を放置し鮮度を低下せしめた場合の各種形態の窒素量を測定し、同時に腐敗進行の程度を察知し、更に腐敗初期の限度を判別する目的を以て種々の試驗を實施した結果、揮發性塩基窒素量を測定するのが最も安全であるとし、且つその量が30mg/100gm附近に於いて初期の腐敗に達する事を再認した[5]。本實驗ではイカ肉（生イカ、燒イカ、煮イカ、酢イカ）を試料とし、之を放置した場合の揮發性塩基窒素量を測定すると共に、腐敗進行に伴つて生成し或いは消滅すると思われる腐敗アミンを檢出し、兩者の關係を追究し一方同一試料を用いて動物試驗を實施してその存在を確認せんとした（就中、腐敗初期附近に於けるアミン類の擧動については、各試料共に綿密な觀察を行つた）。因みに近時宮木、林兩氏[1]は生鮮ハマクリを原料として好氣的に腐敗させた場合のアミン類の消長をペーパークロマトグラフ法に依り檢し、和田、富士川兩氏[2]はイワシを試料とし動物試驗により腐敗毒の作用を檢している。

實　驗　の　部

試料の調製： 第1報に記した如き方法により處理したものを供試料とした。實驗の都合上之を好氣的腐敗及び嫌氣的腐敗の二種に大別した。

好氣的試料では酢イカを除く他の試料にあつては、之を50gm宛滅菌せるペトリー皿に分取したもの數個を用意し、室溫（23°±3°C）に放置し、實驗の都度一個宛使用した。酢イカでは前報酢ダコと同樣に處理した後、酢の中より取出し、液分を流去せしめペトリー皿に分取し、恒溫器內（30°C）中に放置した。

嫌氣的試料では上記と同樣に處理した後、滅菌せる細菌用大型試驗管中に50gm宛分取し流動パラフインを以つて外氣と遮斷し、更にゴム栓を施し、パラフインで封じたもの數本を準備し、各實驗毎に一本宛試料に供した。

實驗方法： アミン類の檢出法：試料1～2gmを採り同量の蒸溜水を加え、更に10% NaOHを數滴注加してアルカリ性となし、30分間振盪して塩基性物質を抽出した後、全量と等量のn-ブタノールを加え再び振盪してブタノール層に移行せしめ、このものを一次元ペーパークロマトグラフ法により展開した。展溶媒としては10% NH_4OH 飽和ブタノールを用い、常法により上昇せしめた後、Ninhydrine 反應、Dithiocarbamate 反應、Diazo 反應[3]を併用してアミン類を檢

出した、又同一試料を用い上記と同様の操作法によりブタノール浸出液を展開し、インドール反應によつて、Pyrole 環を有する化合物の檢出を行つた。尙予め對照としてアミン類の純粹化學藥品を用いて上記同様の操作法によりアミン類の顯色位置を確定しておいた。

揮發性塩基窒素量の測定法：前報と同様 Weber and Wilson 法によつた。

動物試驗：被驗動物は、予防衛生研究所より分與を受けた Mouse を使用した。經口的に投餌する場合は、前日より食物を與えず空腹の狀態に保ち之に試料 2gm を小麥粉 1gmとよく混和し、塊狀とした餌料を投與し翌日殘量を秤り、攝取量を逆算する。又注射による場合は[4]試料 30gm を取り同量の蒸溜水を加え、蛋白、albmose, pepton 等を除去する爲硫酸アンモンを飽和せしめ、濾過後、濾液を酸性となし飽和燐タングステン酸溶液を注加し再び濾過する。洗澱を洗滌後アルカリ性となし、過剩の燐タングステン酸を除去する爲飽和 $Ba(OH)_2$ 溶液を注加し、濾過する。濾液に CO_2 を通じ濾過し $Ba(OH)_2$ を除いた後濾液の減壓濃縮液を前記同様一次元ペーパークロマトグラフ法により展開し、アミン類を確認した。

實驗結果

1. Paperchromatography による腐敗アミンの檢索

上記の如き方法により得られた實驗結果は次の如くである。

(1) 生イカの場合

生イカを試料としたものにあつては第1表の如き揮發性塩基窒素量を測定し、夫々の段階に於いてPaperchromatography により生成アミンを檢出した結果は第1圖～第8圖に示す如くである即ち第1圖より第4圖までは好氣的腐敗によるアミン類の消長であり、又顯色試藥により呈色せるRf を以て表わした。第1圖は Ninhydrine を以て顯色した故、各種アミノ酸及び塩基性物質も勿論同時に檢出される。4時間目に於いて、0～0.1 の band は taurine, proline ,ornithine,,lysine, 等の混合帶であり、0.41～0.50 は tryptophane と思われ、0.58～0.65 は tyrosine、1.0 附近のものは phenylalanine である。12時間目に於いては、tyrosine, phenylalanine は消失している。22時間目に至り 0.7～0.8 の band は histamine であり、0～0.1 及び 0.4～0.5 附近のものは前出と同一物質であろう。28時間目に於いては、0.4～0.5 附近の band が稍々上方に移行し、0.45～0.55 の範圍の band に就いても前出の物質以外に cadaverine, agmatine 等 Rf の低い物質が考慮されるが、確認出來なかつた。30時間では 1.0 附近に新たな物質が出現したが確認出來なかつた。而して此の物質は32時間目に消失した。32 時間目に於ける 0.7～0.93 のものは histamine 及 tyramine の混合帶である。第2圖は dithiocarbomate 反應による呈色物質の Rf であるが、此の試藥では α-アミノ基を有する化合物が檢出される。從つて4時

Table 1. Amount of volatile basic nitrogen during putrefaction of raw squid meat.

Sample No.	Aerobic: Time elapsed (hrs.)	pH	NH_3-N (mg%)	Sample No.	Anaerobic: Time elapsed (hrs.)	pH	NH_3-N (mg%)
A_1	4	6.0	3.51	B_1	5	6.0	3.00
A_2	12	6.0	5.49	B_2	14	6.0	4.91
A_3	22	6.0	19.80	B_3	24	6.0	9.78
A_4	28	6.2	33.75	B_4	26	6.2	20.52
A_5	30	6.6	49.95	B_5	29	6.6	30.32
A_6	32	7.2	60.63	B_6	31	7 0	61.42

Fig. 1. Amines recognized by ninhydrine reaction of raw squid meat under aerobic putrefaction.

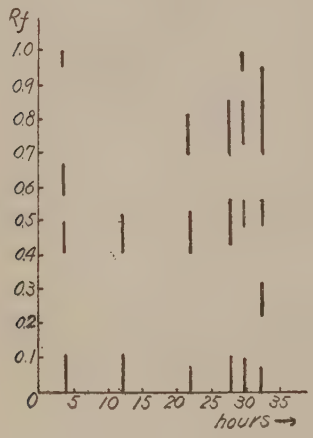


Fig. 2. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of raw squid meat under aerobic putrefaction.

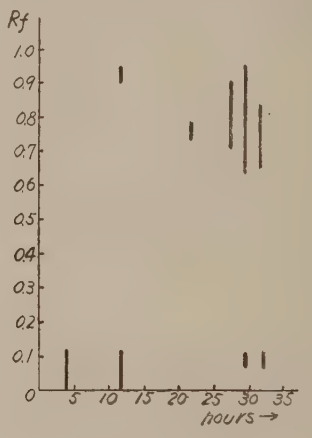


Fig. 3. Amines recognized by diazo reaction of raw squid meat under aerobic putrefaction.

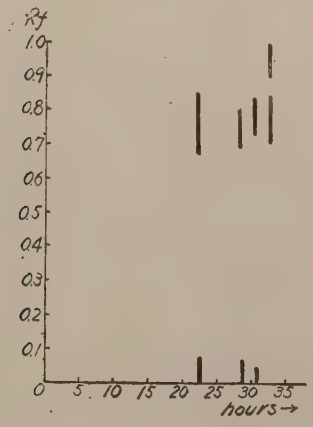


Fig. 4. Amines recognized by indol reaction of raw squid meat under aerobic putrefaction.

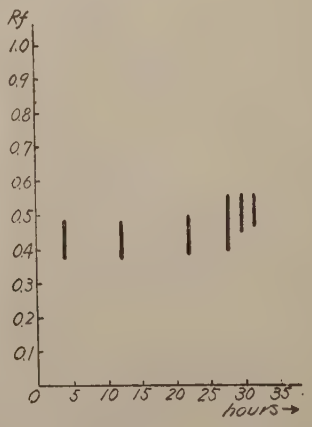


Fig. 5. Amines recognized by ninhydrine reaction of raw squid meat under anaerobic putrefaction.

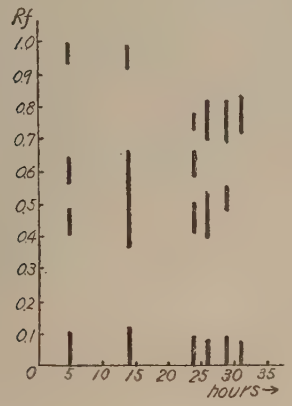


Fig. 6. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of raw squid meat under anaerobic putrefaction.

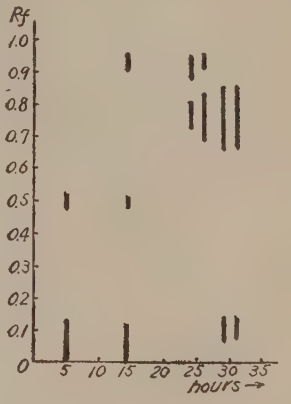


Fig. 7. Amines recognized by diazo reaction of raw squid meat under anaerobic putrefaction.

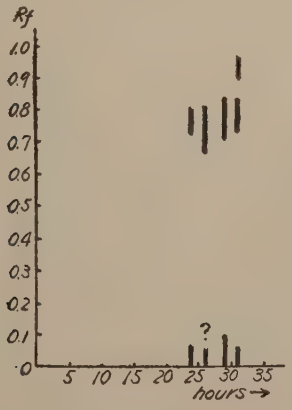
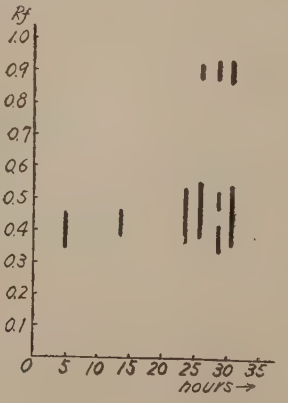


Fig. 8. Amines recognized by indol reaction of raw squid meat under anaerobic putrefaction.



間目に於ける0.01～0.1附近の物質は taurine, β-alanine, lysine 等の混合帶である。12時間目の0.01～0.1のものも同一物質である。又0.9～0.95附近に現われた物質は arcaine である。22時間目に至り0～0.1附近には何等認められなかつた。28時間目の0.7～0.9附近の band 及び30時間目の0.65～0.95の band は histamine と arcaien の混合帶である。30時間目及び32時間目の0.1附近のものは、agmatine であり、arcaine は32時間目には消失している。第3圖に於ては22, 28, 30, 32時間目に夫々0.7～0.85附近に現われた band は histamine であり、又32時間目の0.9～0.95のものは tyramine である。22, 28, 30時間に Rf の低い物質が認められたが判定出來なかつた。第4圖の4時間目に於ける0.38～0.47の band, 12時間目の0.36～0.45, 22時間目の0.4～0.5の band は夫々 tryptophane であるが、28時間目、30時間目、32時間目の0.4～0.55の範圍に亘る band は tryptophane 及び tryptamine の混合帶の如くである。第5圖は嫌氣腐敗試料の ninhydrine 呈色物質の Rf であるが、5時間目に認められた spot は何れも第1圖の4時間目のものと同一である。14時間目の0.36～0.67の範圍の band は tyrosine, tryptophane の混合帶である。24時間目に至り、1.0附近の物質は消失するが、0.75附近のものは histamine であり、之は26, 29, 31時間目にも認められた。又26時間目に至り0.6附近の band も消失している。29時間目の0.5附近の band は tryptamine である。第6圖に於いて、5時間目の0.01～0.13の band は第2圖のものと同じく taurine, β-alanine, lysine の混合帶である。又5, 14時間目に0.5附近に認められる spot は確認出來なかつた。14, 24, 26時間目に於ける0.9～0.95に亘る Rf は arcaine であり、24, 26, 29, 31時間目に0.7～0.85附近に認められる band は histamine である。尙29, 31時間目の0.1附近のものは agmatine であろう。第7圖も第3圖と略々同様な傾向を示した。24, 26, 29, 31時間目に0.7～0.85附近に認められる band は夫々 histamine であり、31時間目には0.9～0.95の範圍に tyramine が出現した。又上記と同時間に低い Rf を有する物質が認められた。第8圖に於いて5及び14時間目の0.4附近の spot は tryptophane であるが24, 26及び31時間目の0.38～0.53の範圍の band は tryptophane, tryptamine の混合帶である。29時間目の0.5附近のものは tryptamine であり、0.4附近のものは tryptophane である。又26, 29, 31時間目に0.9附近に認められる物質は indol である。

(2) 燒イカの場合

燒イカを供試料となし、その揮發性塩基窒素量を測定した結果は第2表に示す如くであり、又第9圖～第12圖は好氣的に放置した際生成する amine と時間との關係を示している。同様に第13圖～第16圖は嫌氣的腐敗による amine の消長を示したものである。第9圖に於ては5時間目に0～0.11に至る band は生イカの場合と同じく taurine, proline, ornithine, lysine 等の混合帶であり、0.4附近のものは tryptophane である。又0.56～0.60附近に不明瞭な band が認められたが之は tyrosine の如くである。0.95附近のものは

Table 2. Amount of volatile basic nitrogen during putrefaction of roasted squid meat.

Sample No.	Aerobic			Sample No.	Anaerobic		
	Time elapsed (hrs.)	pH	NH_3-N (mg%)		Time elapsed (hrs.)	pH	NH_3-N (mg%)
C_1	5	6.0	1.85	D_1	5	—	2.00
C_2	26	6.0	2.25	D_2	24	—	4.74
C_3	37	6.2	16.36	D_3	48	—	31.25
C_4	42	6.4	27.98	D_4	50	—	41.50
C_5	43	7.0	43.63	D_5	59	—	90.07
C_6	48	7.4	77.00				

Fig. 9. Amines recognized by nihydrine reaction of roasted squid meat under aerobic putrefaction.

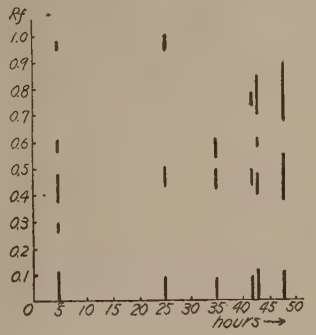


Fig.10. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of roasted squid meat under aerobic putrefaction.

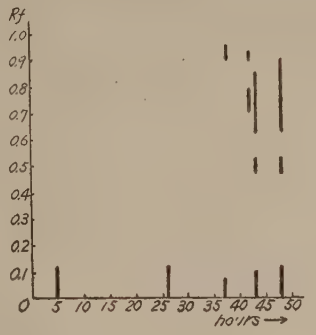


Fig. 11. Amines recognized by diazo reaction of roasted squid meat under aerobic putrefaction.

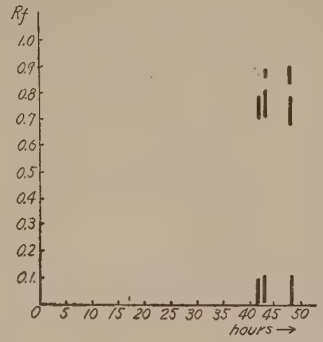


Fig.12. Amines recognized by indol reaction of roasted squid meat under aerobic putrefaction.

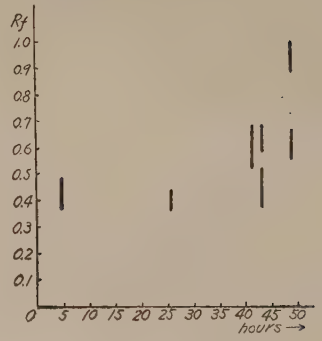


Fig.13. Amines recognized by ninhydrine reaction of roasted squid meat under anaerobic putrefaction.

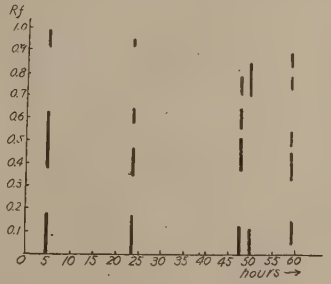


Fig. 14. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of roasted squid meat under anaerobic putrefaction.

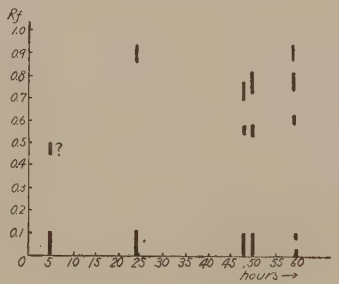


Fig.15. Amines recognized by diazo reaction of roasted squid meat under anaerobic putrefaction.

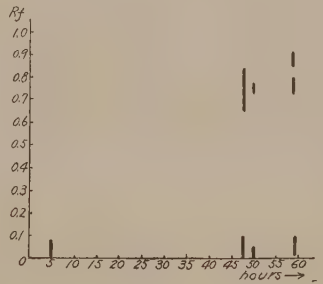
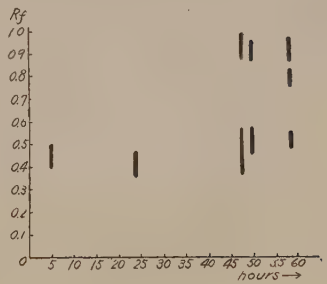


Fig. 16. Amines recognized by indol reaction of roasted squid meat under anaerobic putrefaction.



phenylalanine である。而して0.26～0.28 の範圍の band も未確認である。26時間目では此の未確認の spot は消失し、又 tyrosine と思われる band も認められなかつた。其の他 phenylalanine, tryptophane 及び低い Rf を有するもの等は5時間目の如く認められた。36時間目に至り再び tyrosine を認めたが、phenylalanine は消失せるものゝ如くであつた。42時間目では0.75附近の spot は histmine である。0.02～0.1 の band は之迄同位置に認められた物質とは異り、agmatine, 又は cadaverine の如く思われる。48時間目の0.66～0.90 の band は histamine, tyramine の混合帶であり、0.37～0.55 の band は tryptophane, trypamitne の混合帶である、又低い Rf を有する物質は之迄のものと同一であり agmatine, cadaverine の混合帶である。第10圖では5時間目の0～0.11 の band は taurine, β-alanine, lysine 等であり、26, 37時間のものは β-alanine, lysine の混合帶であろう。43時間目, 48時間目に現われる band は agmatine, putrescine の混合帶である。又43時間目, 48時間目に0.5附近に認められる spot は tryptamine であり、42時間目にみられる 0.61～0.85 の band は histamine である。48時間目の0.62～0.90 の band は histamine 及び tyramine の混合帶である。37時間目に於ける 0.90～0.95, 42時間目の 0.90～0.93 の band は arcaine である。第11圖に於ては42時間目の 0.01～0.09, 43時間目の 0.01～0.11 及び48時間目の 0～0.11 の band は cadaverine, agmatine, putrescine の混合帶である。42, 43, 48時間目にみられる 0.7～0.8 附近の band は histamine であり、43, 48時間目に於いて 0.85 附近の spot は tyramine である。第12圖にみられる如く5時間目、26時間目、43時間目の0.4 附近の band は tryptophane であり, 42時間目の 0.51～0.69 の band, 43時間目の 0.58～0.69 の band, 48時間目に現われる 0.55～0.66 の band は tryptamine である。更に48時間目に於て0.9～1.0 附近に見られる band は indol である。第13圖に於て5時間目及び24時間目に見られる 0～0.18 に至る band は proline, lysine 等であり、5時間目の 0.38～0.63 に亙る band は tyrosine, tryptophane の混合帶である。又 0.95 附近の spot は phenylalanine である。24時間目にも同様な物質が認められた。48時間目に於て 0～0.11 の band は agmatine, putrescine の混合帶であり、0.37～0.52 は tryptophane である。0.6 附近のものは tryptamine であり又 0.7～0.8 に亙る band は histamine である。50時間目には histamine の spot 及び agmatine, putrescine の混合帶が認められた。更に60時間目に至り 0.1 附近の spot は agmatine である。0.4及び 0.5 附近の spot は夫々 tryptophane 及び tryptamine であり 0.74～0.8 の band は histamine である。0.83～0.90 附近に認められる band は tyramine である。第14圖に於いて5時間目には 0.01～0.1 の band が認められるが、之は taurine, β-alanine, lysine 等である。尙 0.45～0.5 附近にも spot が現われたが未明である。24時間目に 0.01～0.11 附近にみられる物質は5時間目のものと同様であり、0.9 附近の spot は arcaine である。48時間目及び50時間目に於て 0.02～1.0 に亙る band は從來のものと同一であり、0.55 附近の spot は夫々 tryptamine であろう。更に 0.7～0.8 の band は histamine である。59時間目では原點附近には agmatine が現われ 0.6 のものは tryptamine である。0.7～0.8 の band は之も histamine である。0.9 附近に認められる spot は arcaine とは異なり tyramine である。第15圖に於ては5時間目に原點附近に band が現われ、又48時間目、50時間目、59時間目にも 0～0.1 に亙る band が認められたが何れも未明である。而して5時間目に認められたものは48時間目以降に現われた物質とは異なるものゝ如くである。又48時間目、50時間目、59時間目に 0.65～0.83 の範圍に亙る band は histamine である。第16圖では5時間目及び24時間目に 0.4～0.5 附近に見られる band は tryptophane であり、0.9 附近の band は indol である。同様に59時間目に於ても 0.5 附近の band は tryptamine であ

り、0.9附近のものは indol である。尙0.75～0.80 の band は skatol である。

(3) 煮イカの場合

煮イカを供試料とした場合にあつては、その揮發性塩基窒素量は第3表に示す如くであり、第17圖～第20圖は試料を好氣的に腐敗せしめた際のアミンの消長を示し、第21圖～第24圖は同じく試料を嫌氣的條件下に放置した場合のアミンの擧動である。即ち第17圖に於ては展開後、ninhydrine を以て顯色したものであるが、5時間目の 0～0.17 附近の band は lysine, taurine, proline, ornithine, arginine, histidine 等主として Rf の低い amino acid 類である。 0.4, 0.6, 0.95附近の spot は夫々tryptophane, tyrosine, phenylalanine である。12時間目に於ても5時間と同一のものが認められた。又24時間目では tyrosine が消失した外に變化をみなかつた。36時間目に於ては再び tyrosine を認めたが phenylalanine は消失せるものゝ如くである。 48時間目に至り 0～0.7附近のband は上記物質のそれと稍々異なつて居り agmatine, putrescine, cadaverine 等の混合帶の如く見受けられた。0.35～0.55 の band は tryptophane 及び tryptamine 混合帶である。 又 0.68～0.82 のものは histamine である。60時間目に於ては tryptophane は消失しているが、0.85～0.9附近に tyramine の出現が認められた。

第18圖に於て5時間目、24時間目、36時間目に 0～0.1 の band 等では Rf の低いamino acids あるが,48時間目及び60時間目の 0～0.1 の band は agmatine putrescine である。48時間目の 0.38～0.55 の band 及び60時間目の 0.5～0.55 の band は tryptamine の如くである。 又 48時間目の0.73～0.82 の band はhistamine であり、 48時間目の 0.9 附近の spot は arcaine である。 60時間目の 0.87～0,93 のband は tyramine 及び arcaine の混合帶である。

第19圖に於て5時間目及び12時間目に 0～0.05 附近の band が見られるが、之は histamine の如くである。又48時間目及び60時間目に 0.7～0.8 の band は hi tamine であり、尙 60時間目の 0.9 附近の spot は tyramine である。

Table 3. Amount of volatile basic nitrogen during putrefaction of boiled squid meat.

Sample No.	Aerobic		Sample No.	Anaerobic	
	Time elapsed (hrs.)	NH_3-N (mg%)		Time elapsed	NH_3-N (mg%)
E_1	5	1.21	F_1	5	1.77
E_2	12	2.00	F_2	12	1.85
E_3	24	2.23	F_3	24	1.99
E_4	36	7.24	F_4	36	3.28
E_5	48	26.59	F_5	52	6.71
E_6	60	78.34	F_6	56	29.62
			F_7	60	101.97

第20圖に於ては5時間目、12時間目、24時間目、36時間目に 0.4～0.5 に認められる band は夫々 tryptophaneであり、48時間目、60時間目の0.4～0.65の band は tryptophane と tryptamine の混合帶である。又60時間目の 1.0 附近の spotは indol である。

第21圖にあつては他の試料と略々同樣に5時間目の 0～0.1 の band は histidine, lysine, taurine, proline, arginine, ornithineの混合帶であり、12時間目、24時間目、36時間目及び52時間目の1部のものも同一物質である。而して56時間目及び60時間目の band は agmatine, putrescine の混合帶である。5時間目より52時間目までの 0.4 附近の band は tryptophane である。56時間目の 0.38～0.54 の band は tryptophane と tryptamine の混合帶であり、60時間目の 0.5～0.55 の band は tryptamine である。又5時間目より52時間目までに現われる 0.6～0.7 の band は tyrosine である。52時間目、56時間目の 0.75～0.8 の band は histamine であり、 60時間目の 0.7～0.93 の band は histamine, tyramine の混合帶である。 又5時間目より36時間目までに 1.0 附近に現われる band は phenyla-

Fig. 17. Amines recognized by ninhydrine reaction of boiled squid meat under aerobic putrefaction.

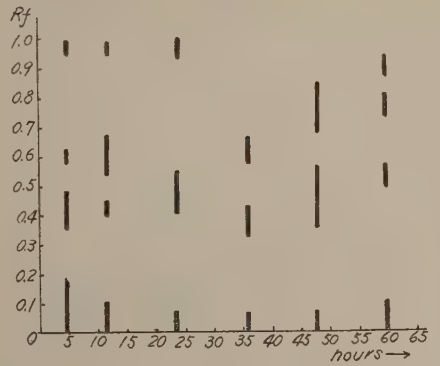


Fig. 18. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of boiled squid meat under aerobic putrefaction.

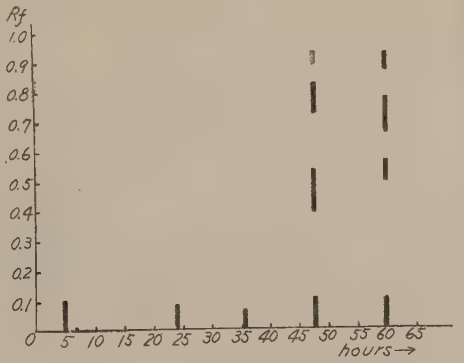


Fig. 19. Amines recognized by diazo reaction of boiled squid meat under aerobic putrefaction.

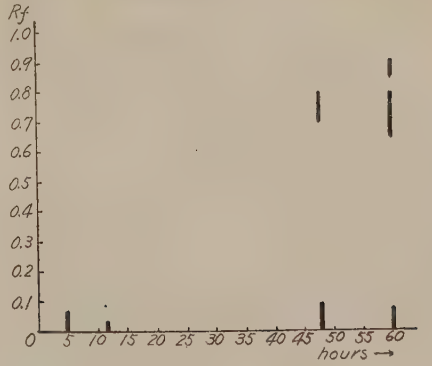


Fig. 20. Amines recognized by indol reaction of boiled squid meat under aerobic putrefaction.

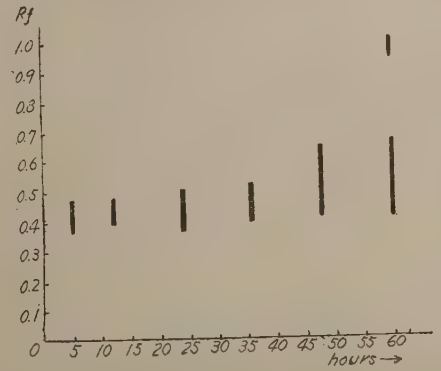


Fig. 21. Amines recognized by ninhydrine reaction of boiled squid meat under anaerobic putrefaction.

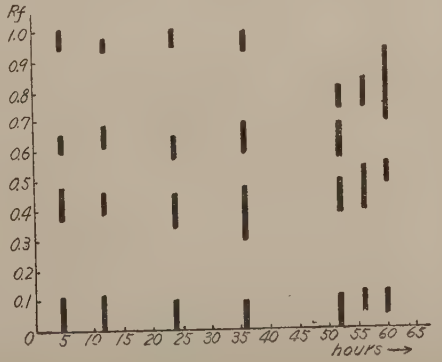


Fig. 22. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of boiled squid meat unter anaerobic putrefaction.

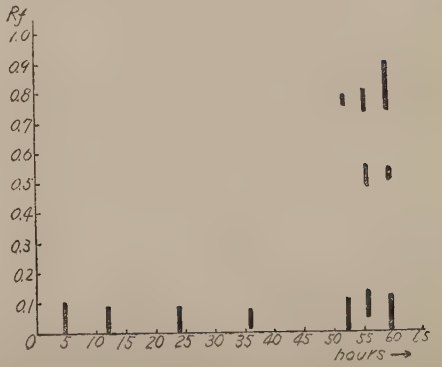


Fig. 23. Amines recognized by diazo reaction of boiled squid meat under anaerobic putrefaction.

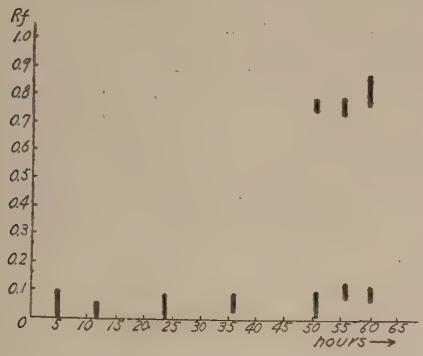
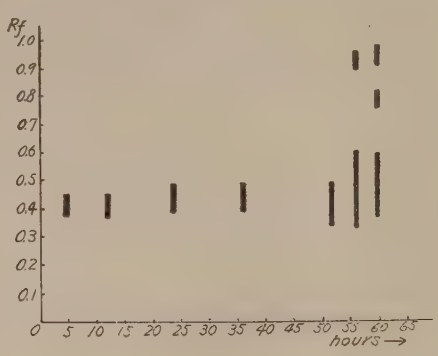


Fig. 24. Amines recognized by indol reaction of boiled squid meat under anaerobic putrefaction.



lanine である。

第22圖に於ては5時間目、12時間目、24時間目に現われる 0～0.1の bandはtaurine, β-alanine, lysine である。36時間目の0.5附近の spot は lysine である。52時間目、56時間目、60時間目の 0～0.12の band は agmatine, putrescine の混合帶である。56時間目、60時間目に現われる0.5附近の band は tryptophane の如くである。25時間目、56時間目の0.75附近の spot はhistamine であり、60時間目の0.72～0.85の band は histamine, tyramine の混合帶である。

第23圖にあつても他の試料と同じ結果が得られた。即ち5時間目より36時間目までの 0～0.1 の bandはhistamine, arginineの如くであり、51時間目より60時間目までに現われる 0.1 附近のspot はagmatineである。又51時間目及び55時間目の0.7～0.8附近のbandはhistamineである。60時間目の0.7～0.88 の band は histamine, tyramineの混合帶である。

第24圖の5時間目より52時間目に現われる0.4～0.5のband は tryptophane, 56時間目、60時間目の0.34～0.6の band は tryptophane, tryptamine の混合帶である。又56時間目、60時間目の0.8～1.0の band は indol であり、又60時間目の0.8附近の spot は skatol である。

(4) 酢イカの場合

酢イカを試料となした場合の揮發性塩基窒素量の變化は第4表に示す如くである。而して第25圖～第28圖は試料を酢の中より移し取り、液分を流去した後、放置したものに就いて認められた amine を示した。即ち第25圖に於ては12時間目より72時間目に現われた 0～0.1のbandはlysine, prolin等のamino acids である。又96時間目、120時間目の原點附近の spot はornithineであり、0.1附近の spot は夫々 agmatine である。尙0.25附近のものは cadaverline の如く見受けられた。12時間目より48時間目に至る0.4～0.5の band は tryptophane であり、72時間目の0.43～ 0.59 の band はtryptophane, tyramine の混合帶である。更に96時間目及び120時間目の0.5～0.6の band は夫々 tryptamine である。12時間目より48時間目に至る0.6～0.65のものは tyrosine である。0.73～0.8のRfを有する histamine は48時間目より出現し120時間目に至るも消失しない。96時間目及び120時間目の0.72～0.9の band は histamine, tyramine の混合帶を示している。48時間目の0.9～0.95の spot は arcaine である。

第26圖に於て12時間目より72時間に 0～0.8の附近に現われる spot は lysine, taurine 等の混合

Table 4. Amount of volatile basic nitrogens of squid with vinegar.

Sample No.	Time elapsed (hrs.)	pH	NH_3-N (mg%)
G_1	12	6.0	1.83
G_2	24	6.0	1.85
G_3	48	6.0	1.92
G_4	72	6.2	2.03
G_5	96	6.2	2.45
G_6	120	6.2	2.79

帯であるが96時間目及び12時間目に0.1のRfを有するspotはagmatineであろう。48時間目より120時間目に至るまで0.7～0.8附近に見られるbandはhistamineであり、96時間目及び120時間目に認められる0.8～0.85のbandはtyramineである。

第27圖では72時間目より120時間目までに認められるbandは未明であるが、既述せる如き物質の混合帯と推定される。48時間目より120時間目に至る0.7～0.8のbandはhistamineであり、0.8～0.88のbandはtyramineである。

第28圖に於ては、12時間目より72時間目までに tryptophane が認められ、72時間目以後はtryptamineが檢出された。

以上の如く放置時間の推移に伴つて分解生産物が漸次出現し、或は消滅するのであるが paper chromatograph上に於て展開物質の顯色反應はdiazo反應、dithiocar bamate反應、indol反應等を組合せたものである。即ちdiazo反應はpauly反應によつたものであり、histamine及びその誘導體のimidazol核又はtyrosine及びその誘導體のbenzen核にdiazobenzol sulphonic acidによつてazo色素を形成せしめ呈色させる。ninhydrine反應はninhydrineがamino acidsに對して酸化的作用によりdiketo hydrindyliden diketo hydroindamineを生じて呈色するものであり從つてα-amino acid以外に容易に酸化されるamino基を有する化合物であれば總て呈色する。又dithiocarbamate反應はninhydrine反應とは逆にα-amino acids以外のamino compoundsが呈色する。從つて之等を組合すことにより殆ど凡てのamino compoundsが認められるわけである。

Fig. 25. Amines recognized by ninhydrine reaction of squid with vinegar during putrefaction.

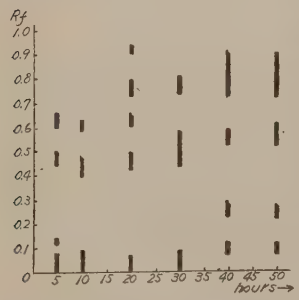


Fig. 26. Amines recognized by dithiocarbamate reaction of squid with vinegar during putrefaction

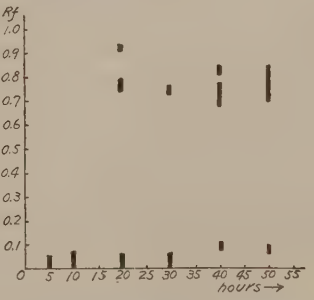


Fig. 27. Amines recognized by diazo reaction of squid with vinegar during putrefaction

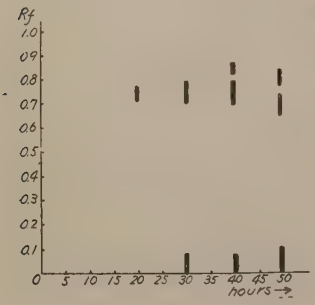
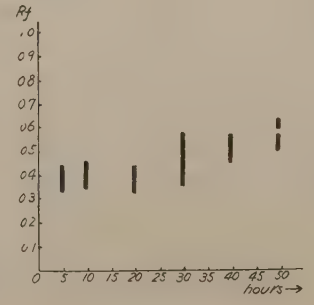


Fig. 28. Amines recognized by indol reaction of squid with vinegar during putrefaction



2. 動物試驗による食中毒の確認

以上の如き實驗と併行し經過時間毎に腐敗アミン

の檢索と同一の試料を用いて動物試驗を實施し、食中毒を惹起するものなりや否やを檢した。又初期腐敗近邊に於ける觀察には特に留意した。

(1) 生イカの場合

生イカを試料とせる動物試驗にあつては、好氣的腐敗の試料はA_3, A_4, A_5, A_6 の試料番號を有するものを用いた。一方嫌氣的腐敗の試料はB_3, B_4, B_5, B_6の試料番號を有するものを使用した。その結果は第5表及び第6表に示す如くである。

(2) 燒イカの場合

燒イカを試料とする動物試驗では好氣的腐敗による試料はC_2, C_3, C_4, C_5, C_6 の試料番號のものを用い、又嫌氣的腐敗の試料は D_2, D_3, D_4, D_5 のものを用いた。之等につき得られた結果は第7表及び第8表に要約した如くである。

(3) 煮イカの場合

煮イカを試料とした動物試驗に於ては好氣的腐敗による試料はE_3, E_4, E_5, E_6 の試料番號のものを用いた。又嫌氣的腐敗の試料はF_3, F_4, F_5, F_6, F_7 を用いた。第9表及び第10表は之等による試驗結果を示している。

(4) 酢イカの場合

酢イカにあつてはG_4, G_5, G_6 の試料番號を有するものを用いて動物試驗を實施した。その結果は第11表及び第12表に示した如くである。

考　　察

1. 生イカ肉、燒イカ肉、煮イカ肉及び酢イカの腐敗過程中に於ける揮發性鹽基窒素量と經過時間との關係

各種處理を施せる試料を好氣的及び嫌氣的條件下に放置せる際の揮發性塩基窒素量は第29圖に示す如き結果を得た。即ち好氣的及び嫌氣的兩條件下に於ては生イカ肉が最も迅速に揮發性塩基窒素量が增加し、燒イカ肉がこれに次いで居り、煮イカ肉は最も緩慢である。換言すれば生鮮の

Table 5. Results of animal test by feedig with raw squid meat.(1)

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse (gm.)	Feed: Amount of intake (gm.)	Feed: Amount of remnant (gm.)	Conditions	Decision of alive or dead (2)	Results of postomotem examination
A_3	1	19	3.0	0.0	Normal	Live	——
A_4	2	26	3.0	0.0	Vomiting, Diarrhœa, Spasm.	Death	Liver atrophy, Lungs congestion.
A_5	3	20	3.0	0.0	〃	Death	Hœmorrhage of the intestines.
A_6	4	16	2.5	0.5	Vomiting, Diarrhœa, Poor apetit.	Death	Congestion of the intestines. Expanded by intesinal gas.
B_3	5	17	3.0	0.0	Normal	Live	——
B_4	6	21	3.0	0.0	Normal	Live	——
B_5	7	20	3.0	0.0	Vomiting. Spasm. Dyspnœa.	Death	Lungs congestion, Hœmorrhage of the intestins.
B_5	8	18	3.0	0.0	Vomiting, Diarrhœa	Death	Hœmorrhage of the lungs. Expanded by intestinal gas.

Note: (1) Feeds are as described under "experimental method" in this paper.
(2) Decision of alive or dead was made 24 hours after feeding.

Table 6. Results of animal test by injection[1] with raw squid meat.

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse (gm)	Injected volume (c.c)	Conditions After. 5 mins.	After. 10 mins.	After. 20 mins.	After. 30 mins.	After. 40 mins.	After. 60 mins.	Results of postomotem examination
A 3	9	19	1c.c	Crouch	live					—
A 4	10	20	1c.c	Crouch	Diarrhœa Vomiting	Spasm	Spasm	Death		—
A 5	11	23	1c.c	Crouch Vomiting	—	Spasm	Spasm	Spasm	Death	—
A 6	12	18	1c.c	Vomiting	Vomiting Diarrhœa	Spasm	Spasm	Death		—
B 3	13	17	1c.c	Crouch	Vomiting Diarrhœa	Live				—
B 4	14	20	1c.c	Crouch	Lie	Crouch	Live			—
B 5	15	15	1c.c	Crouch Vomiting	Vomiting Diarrhœa	Spasm	Spasm	Spasm	Death	—
B 6	16	19	1c.c	Crouch Vomiting	Spasm	Death				—

Note: (1) Preparation of injected liquid was as described under "experimental method" in this paper.

Table 7. Results of animal test by feeding with roasted squid meat,

Samlpe No.	Mouse No.	Weight of mouse (gm)	Feed Amount of intake (gm)	Feed Amount of remnant(gm)	Conditions	Decision of alive or dead	Result of postomotem examination
C 2	1	17	3.0	0.0	Normal.	Live	—
C 3	2	19	3.0	0.0	Normal.	Live	—
C 4	3	21	3.0	0.0	Vomiting after lieing recover.	Live	—
C 5	4	21	2.5	0.5	Dyspnœa. Vomiting. Dairrhœa. Spasm.	Death	—
C 6	5	20	3.0	0.0	Vomiting. Darrhœa Spasm. dyspnœa	Death	—
D 2	6	18	3.0	0.0	Normal.	Live	—
D 3	7	21	3.0	0.0	Vomiting after lieing recover	Live	—
D 4	8	19	3.0	0.0	Vomiting. Dyspnoea. Spasm.	Death	—
D 5	9	18	3.0	0.0	Vomiting. Dyspnœa. Spasm	Death	—

Table 8. Results of animal test by injection with roasted squid meats

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse (gm.)	Injected volume	Conditions						Results of postomotem examination
				After 5 mins.	After 10mins.	After 20mins.	After 30mins.	After 45mins	After 60mins	
C_2	10	21	1c.c.	Crouch	Crouch	Live				——
C_3	11	19	1c.c.	Crouch	Live					——
C_4	12	20	1c.c.	Crouch	Vomiting	Vomiting	Dispnoea	Crouch	Live	——
C_5	13	19	1c.c.	Vomiting Diarrhoea	Vomiting Diarrhoea	Dispnoea	Spasm	Death		Hoemorrhage of the lungs.
C_6	14	17	1c.c.	Vomiting Diarrhoea	Dispnoea	Spasm	Death			Hoemorrhage of kidney and liver. Congestion of intestines
D_2	15	18	1c.c.	Crouch	Crouch	Live				——
D_3	16	23	1c.c.	Crouch	Lie	Vomiting Dispnoea	Spasm	Death		Hoemorrhage of the intestines. Congestion of the lungs.
D_4	17	22	1c.c.	Crouch	Vomiting Diarrhoea	Spasm	Death			Hoemorrhage of the intestines. Atrophy of lungs and liver.
D_5	18	20	1c.c.	Crouch	Vomiting	Dispnoea	Spasm	Spasm	Death	Hoemorrhage of liver and intestines.

Table 9. Results of animal test by feeding with boiled squid meat

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse (gm)	Feed		Conditions	Decision of alive or dead	Result of postomotem examination
			Amount of intake (gm)	Amount of remnant (gm)			
E_3	1	20	3.0	0.0	Normal	Live	——
E_4	2	22	3.0	0.0	Normal	Live	——
E_5	3	20	3.0	0.0	Vomitimg, Diarrhoea, Spasm.	Death	Congestion of liver and lungs. Hoemorrhage of the intestines.
E_6	4	18	3.0	0.0	Vomiting, Spasm, Dyspnoea.	Death	Expanded by intestinal gas. Hoemorrhage of the intestines and lungs.
F_3	5	19	2.5	0.0	Normal	Live	——
F_4	6	17	3.0	0.0	Normal	Live	——
F_5	7	20	2.5	0.0	Normal	Live	——
F_6	8	18	3.0	0.0	Diarrhoea, Vomiting, Spasm.	Death	Hoemorrhage of the kidney and lungs.
F_7	9	17	3.0	0.0	Diarrhoea, Dyspnoea, Spasm.	Death	Expanded by intestinal gas Hoemorrhage of the lungs.

Table 10. Results of animal test by injection with boiled squid meat.

Sample No.	Moues No.	Weight of mouse(gm.)	Injected volume (c.c.)	Conditions						Results of postomotem examination
				After 5 mins.	After 10mins.	After 20mins.	After 30mins.	After 45mins.	After 60mins.	
E_3	10	19	1c.c.	Crouch	Crouch	Live				—
E_4	11	21	1c.c.	Crouch	Crouch	Crouch	Live			—
E_5	12	23	1c.c.	Crouch	Vomiting Diarrhœa	Vomiting Diarrhœa	Dispnœa	Spasm	Death	Hœmorrhage of the lungs, and the kidney.
E_6	13	18	1c.c.	Crouch	Vamiting Diarrhœa	Dispnœa	Spasm	Death		Hœmorrhage of the lungs, kidney and the intestines.
F_3	14	17	1c.c.	Crouch	Live					—
F_4	15	18	1c.c.	Crouch	Crouch	Crouch	Live			—
F_5	16	20	1c.c.	Crouch	Vomiting	Crouch	Live			—
F_6	17	21	1c.c.	Crouch Vomiting	Crouch Vomiting	Dispnœa	Spasm	Death		Congestion of the lungs. Hœmorrhage of the intestines.
F_7	18	18	1c.c.	Crouch Vomiting	Vomiting	Dispnœa	Spasm	Death		Hœmorrhage of the intestines. Atrophy of the liver.

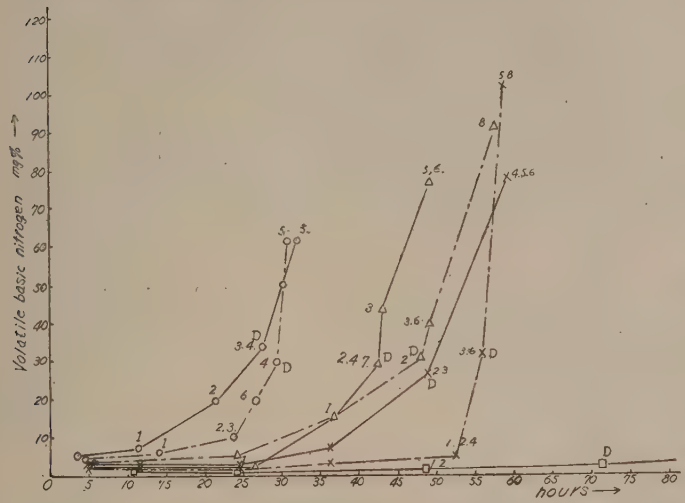
Table 11. Resulfs of animal test by feeding with squid with vinegar.

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse(gm.)	feeds		Conditions	Decision of alive or dead	Results of postomotem examination
			Amounts of intake(gm.)	Amounts of remnant(gm.)			
G_3	1	20	3.0	0.0	Normal	Live	—
G_4	2	20	3.0	0.0	Crouch, vomiting and diarrhœa	Live	—
G_5	3	21	3.0	0.0	Vomiting, diarrhœa, dispnœa and spasm.	Death	Congestion of the lungs,liver and kidney. Hœmorrhage of the intestines.
G_6	4	18	3.0	0.0	Vomiting, diarrhœa, dispnœa and spasm.	Death	Hœmorrhage of the liver.

Table 12. Results of animal test by injection with squid with vinegar.

Sample No.	Mouse No.	Weight of mouse(gm.	Injected Volume (c.c.)	Conditions						Results of postomotem examination.
				After 5 mins.	After 10mins.	After 20mins.	After 30mins.	After 45mins.	After 60mins.	
G_3	5	19	1c.c.	Crouch	Crouch	Live				—
G_4	6	21	1c.c.	Crouch	Vomiting	Live Diarrhœa	Vomiting Dispnœa	Crouch	Live	—
G_5	7	22	1c.c.	Crouch	Vomiting Diarrhœa	Lie Dirrhœa	Dispnœa	Spasm	Death	Hœmorrhage and change of color of the liver and lungs.
G_6	8	18	1.c.c	Crouch	Vomiting Diarrhœa	Dispnœa	Spasm	Death		Hœmorrhage of the intestines. Congestion of the kidney.

Fig, 29, Change of the amount of volatile basic nitrogen and amines appeared by various reactions for squid meat.



1. Arcaine, 2. Histamine, 3. Tryptamine, 4. Agmatine, 5. Tyramine, 6. Indol, 7. Putrescine, 8. Skatol, D. Death point of animal.

状態に放置したものが最も速かに腐敗し、燒イカが之に次ぎ、酢イカは最も腐敗し難いことになる。此の時間的差異を生ずる原因は處理方法によるものであつて、燒イカは焙燒により魚體に附着せる腐敗細菌が殺菌せられ、又筋肉中の自家消化酵素も加熱により破壞され、再び細菌が繁殖して組織を分解するまでには長時間を要するためであろう。酢イカの場合に就いても全く同樣であつた。又好氣的及び嫌氣的兩條件に就いてみるに、一般に好氣的條件下に於いては嫌氣的條件下に於けるものより速かに腐敗を開始するものゝ如くであるが、腐敗の程度は逆に嫌氣的條件によるものの方が好氣的條件によるものより勝る如く見受けられる。

2. 腐敗 **amines** の消長と揮發性塩基窒素量との比較。

上記の如く paper chromatography によつて認められた諸物質と揮發性塩基窒素量との關係を檢討すれば次の如くである。

(1) 生イカ試料を好氣的に放置し腐敗せしめた場合に檢索された ptomaine は histamine, tyramine, tryptamine, agmatine, arcaine の5種類である。而して arcaine は12時間目に出現し、30時間目に至つて消失した。tyramine は32時間目に至つて出現した。histamine は22時間目に既に認められ32時間目に至るも消滅しなかつた。tryptamine は28時間以後出現し33時間目まで繼續して認められた。agmatine は30時間目以後に認められた。之等を概觀するに最も早く出現した amine は12時間目の arcaine であり、次いで22時間目に histamine が認められ、28時間目以後は他の3種の amines も漸次現はれた 一方揮發性塩基窒素量をみるに22時間目に於てはその增加率が急激になる直前であり、28時間目は揮發性塩基窒素量は33.75mg%であつて所謂初期腐敗の段階に到達したものである。30時間目以後は完全な腐敗の徵候を示し、揮發性塩基窒素量も49.95mg%と增加している。而して histamine が揮發性塩基窒素量が19.80mg% より 33.75mg% に增加の直前に出現し、又初期腐敗以後に他の amines が出現したことも注目に値する。

試料を嫌氣的に腐敗せしめる際に、檢索された ptomaine は好氣的條件下に於けるものと略々同一であつて histamine, tyramine, agmatine; tryptamine. arcaine. indol の6種類である。之等の出現する時間も亦好氣的腐敗の際と略々同樣であり、 arcaine は15時間以後、28時間目に消失し、histamine 及び tryptamine は24時間以後に出現した。agmatine は29時間以後に現われ、tyramine も31時間目以後に認められた。之等の消長と揮發性塩基窒素量とを比較するに第29圖に

みられる如く histamine は揮發性塩基窒素量が 9.78mg% より 20.52mg% に增加の直前に出現し、又他の大多數の amines が初期腐敗前後に出現しているのは前記と同様に興味ある事實である。又特に嫌氣的腐敗の際には indol の存在が認められたのであるが此のものが出現した時間は初期腐敗の前後であり、鮭の腐敗初期の檢出に肉眼的鑑定の補助としてこの化合物を定量すればよいと Clough[6] により述べられた事實と極めてよく符合している。

(2) 燒イカ試料を好氣的に放置し腐敗せしめた場合に檢索された ptomaine は arcaine, agmatine, tyramine, histamine, tryptamine, cadaverine の6種類である。而して生イカに於ける如く histamine が窒素量增加の直前に出現し、又他の amines は腐敗初期と前後して現われている。又 indol も 49 時間目に認められたことは生イカに比し稍々分解度が大なるものゝ如く解せられる。

更に嫌氣的に腐敗せしめる際に檢索された ptomaine は好氣的分解生產物と略々同一であり、arcaine, agmatine, histmine, tyramine, putrescine, tryptamine, indol, skatol の 8 種類である。之等諸物質と揮發性塩基窒素量との關係は好氣的條件下に於ける場合と同樣であり、概して histamine は揮發性塩基窒素量の激增直前より認められ又他の amines も初期腐敗前後に出現している。又 indol 反應により indol 及び59時間目に skatol の存在が認められたが、此の場合も好氣的分解に比し分解度が大なる如く見受けられる。

(3) 煮イカ試料を好氣的に放置し腐敗せしめた場合に檢索された ptomaine は arcaine, histamine, tyramine, tryptamine, agmatine, putrescine, indol の 7 種類であり之等の擧動は上記の 2 種類の試料と同樣であり、又揮發性塩基窒素量との關係も上記の如くである。嫌氣的に腐敗せしめた場合の分解生產物も好氣的生產物と同樣であるが indol の分解は更に進んで60時間目に skatol を生成する事が認められた。

(4) 酢イカ試料にあつては上記 3 種類の試料と異なり、揮發性塩基窒素量の增加率は極めて緩徐であつて120時間を經過した後でも僅かに2.79mg% を示したに過ぎない。然るに一方 ptomaine の生成狀況をみるに、48時間目に於いて arcaine 及び histamine が認められ、72時間目より tryptamine が出現した。96時間よりは他のアミン類も總て認められた。而して檢出し得た ptomaine は arcaine, histamine, tyramine, tryptamine, cadaverine, agmatine の 6 種である。それ故酢イカ試料にあつては全く揮發性塩基窒素量とは無關係の如く解される。

以上より生イカ、燒イカ及び煮イカの何れの試料にあつても histamine が揮發性塩基窒素量激增の直前に出現し、殘余の分解生產物が腐敗初期前後に認められたことは頗る興味ある事實であり、從つて amines の擧動を把握することにより新鮮度判定の目安とすることも可能であろう。又從來魚肉の腐敗初期の限度が揮發性塩基窒素量により 30mg% とされてきた意味を裏附ける一因ともなるであろう。更に又何故に arcaine 及び histamine のみが斯樣に他の amines に比して稍々早期に出現するものであるか、その機構は今後に殘された問題であるが、凡そ次の如く推定することが出來る。即ち ptomaine に就き paper chromatograph が確認し得る最小限量が略々同程度である故、amino acids より分解して生ずる amines は一定量に達した場合認められる筈である。それ故 histidine より histamine を生成する速度が他の amino acide に相當する amines を生成する速度より大であるとも考えられる。勿論五十嵐氏[7]によれば histamine は新鮮なる臟器及び筋肉中にも微量に存在すると述べて居り、このことより histamine が他の amines より早期に出現するものと勘考することも出來よう。又腐敗に關與する細菌相の推移も斯樣な amines 生成の要因ともなるのであらう。

agmatine は arginine の炭酸分離によつて生成する塩基であり、本實驗に於ては初期腐敗を經過した後の試料中に認められたが、此の塩基は未だ細菌による分解生産物中には發見されていない故恐らく自家消化の進行に伴つて生成したものと考えられる。

好氣的腐敗及び嫌氣的腐敗による分解生産物の差異特にその毒性については山田[4]は鮮肉を好氣的に腐敗せしめる際にその蛋白の分解度は比較的緩慢であり、嫌氣的に腐敗せしめる時は初期に於て急速に分解し、且つ生成せる物質の毒性は前者に比して著しく劇しいと述べているが、本實驗に於ては幾分異つた結果を示し、既述せる如く嫌氣的腐敗は好氣的腐敗に比し、その分解度は緩徐であるが、分解の進行に伴い、その程度が著しく增大し、從つて分解生成物も更に低分子の物質が得られたのである。

3　生成 amines の毒性

試驗動物に對し經口投餌並びに皮下注射を行い、その生死を檢した結果、生イカの好氣的腐敗の場合は28時間目の試料により斃死し、嫌氣的の場合では29時間目のものより斃死した。燒イカの好氣的腐敗の場合は56時間目に斃死した。此の際、之等の揮發性塩基窒素量は燒イカの好氣的腐敗の試料を除き約 30mg% であつた。それ故、此の時期の近邊に於ては既述の如く ptomaine は急激に出現しており、又斃死した試驗動物の中毒症狀を觀察するに何れも嘔吐、下痢、間代性痙攣より硬直性痙攣を經て死に至つて居り、高瀨[8]によれば ptomaine による中毒症狀は嘔吐、下痢、嚥下困難、卒倒、痙攣及び虛脫等であると云われる點から兩者を比較すれば極めてよく一致する。

個々の分解生産物の毒性及び中毒症狀を檢すれば次の如くである。即ち高瀨[8]によれば cadaverine は 0.5g/kg を試驗動物に與えた場合に昏迷に陷り、間代性痙攣を起し、呼吸困難、血壓降下に次いで死を來すものであるが毒性の强いものではない如くである[9][10][11]。又 putrescine では 0.2g/kg の投餌により高度の呼吸困難、不整脈、不全麻痺を來たし、又同量の靜脈注射により間代性痙攣を惹起し數時間内に死亡する如くである[12][13][14]。agmatine は血壓降下作用及び强い痙攣作用を有している[15]。indol は蛙に對して特有な麻痺的徵候を伴つた間代性痙攣を起さしめ、溫血動物に對しては更にその作用が强く發現し、致死量は mouse に對し 4mg/10g である[16]。skatol は indol に比しその毒性は少しく劣る如くである[17]。histamine は嘔吐、呼吸困難、間代性痙攣を經て硬直性痙攣を惹起せしめ、mouse に對し經口的で 2.5g/kg を與えると 2 時間以内に死を來たし、皮下注射では 15mg/kg で斃する[18]。Guggenheim[19]によれば histamine の毒性は tyramine により制限せられ、tyyrmine は亦 histmine の重篤な循環系障碍を除去すると述べている。又 Jäger[20] は histamine の副作用中血壓降下作用による虛脫症狀は tyramine の配合によつて防止する事が出來ると報告しているが tyramine 自身の中毒作用は呼吸困難を招來する。

斃死せる mouse を直ちに解剖した結果は何れも肺臟に瀰漫性點狀出血を認め、更に小腸、腎臟等にも充血若くは出血を認めた。山田[4]は histamine の如き腐敗毒の一定量以上を動物に與えた場合腐敗毒は排泄器官即ち肺臟、腎臟、消化管等に排泄せられ、此處で毒作用が顯著となり、肺臟、腎臟、十二指腸部に出血する。このため試驗動物は中毒初期より烈しい呼吸困難、嘔吐、下痢等の症狀を發現し、續いて痙攣、麻痺等の神經症狀を惹起すると報告した。それ故 ptomaine 中毒の一般症狀及び本實驗に於て檢出せる個々の物質の毒性及び中毒症狀、更に動物試驗の際の症狀、中毒死した試驗動物の解剖結果、及び中毒發生の時期等を勘考するに軟體動物特にイカを對象とする食中毒は極めて histamine によるものと類似した結果を示した。

又揮發性塩基窒素量が50mg% を超過した試料を試験動物に與えて、それが斃死した後、解剖した結果、腸管内に著しくガスが充滿し膨化するのを認めた。此の事は、試験動物が細菌自身による毒物、例えば腸炎菌(eutero toxine)等の生理作用によつたものとも考えられる。[21] 尙此の問題は後日更に綿密なる實驗を必要とするものである。

本實驗に於て試料別にみれば生イカは最も腐敗の進行が速かであり、これは夏期等にあつて比較的高溫度の場合放置時間が1晝夜を超過すれば amines 特に histamine 量が增加する故危險である。次いで燒イカは1晝夜半を經過すれば同樣に危險な狀態となり、煮イカは最も遲いが2晝夜を經過すれば食用に供するに不適と思われる。而して一般に感能的に魚介肉の鮮度を判定する際は、その腐敗臭によるものが多いのであり從つて上記の如き經過時間後に於ては明かに腐敗臭を感ずる故食用に供することは先づ考えられない。然るに酢イカにあつては全く腐敗臭を感ずる事が出來ず、肉質も殆んど變化しないにも拘らず2晝夜以上を經過したものにあつては多量の ptomaine を生成しており、鑑別が極めて困難であり、且つ危險である。從つて酢イカの場合は液分を流去した後は48時間以内に食用に供すべきである。

要　　約

イカ肉を生鮮のまゝ、焙燒、湯煮又は酢漬け等の處理を施した試料を好氣的、嫌氣的條件下に放置した場合に、新鮮度判定の基準とすべき揮發性塩基窒素量を測定しつゝ生成 ptomaine の消長擧動を paper chromatography により檢索した。一方之と併行して動物試驗により生成 ptomaine の毒性並びに中毒症狀を檢した。その結果を要約すれば次の如くである。

(1)好氣的條件及び嫌氣的條件下に試料を腐敗せしめた場合にその蛋白の分解度は山田氏によつて得られた結果と多少異なり、好氣的條件下に於ては嫌氣的條件下に於けるものより速やかに腐敗を開始するものゝ如くであるが、その程度は逆に嫌氣的條件によるものゝ方が好氣的條件によるものより勝る如く見受けられる。又試驗別にみれば生イカ肉が最も迅速に揮發性塩基窒素量が增加し、燒イカ肉がこれに次いで居り、煮イカ肉は最も緩慢である。此の差異は處理方法によるものであつて燒イカ、煮イカは焙燒及び煮熟により魚體に附着した腐敗細菌が殺菌せられ、又筋肉中の自家消化酵素も加熱により分解され、再び細菌が繁殖して組織を分解するまでには長時間を要するためであろう。

(2)揮發性塩基窒素量と aminesの消長の關係を檢するに酢イカを除き他の何れの試料にあつても、揮發性塩基窒素量が激增する直前に histamine, arcaine が出現し、初期腐敗前後に他の amines が檢索された。paper chromatograph により認められた ptomaine は histamine, arcaine, tryptamine, tyramine, agmatine, putrescine, cadaverine, indol, skatol 等である。生イカの嫌氣的腐敗の際には indol の存在が認められたが、此の化合物が出現した時期は初期腐敗の直前であり、鮭について報告した Clough の實驗結果とよく一致している。

(3)動物試驗により生成した ptomaine の毒性を檢した結果、試驗動物の中毒症狀は嘔吐、下痢、間代性痙攣より硬直性痙攣を經て死に至つた。此の結果は高瀨による實驗結果と一致して居た。又個々の ptomaine の毒性、中毒死した試驗動物の解剖結果等を綜合し勘考するに、軟體動物特にイカを對象とする食中毒は極めて histamine によるものと類似した。酢イカにあつては揮發性塩基窒素量の增加率は極めて緩徐であるに拘らず、その ptomaine 生成時間は夏期溫度に於て約48時間放置後に發現する故感能的に腐敗の程度を鑑別することは困難であり且つ危險である。揮

發性塩基窒素量が50mg％を超過した試料を試驗動物に經口的に與えた場合、腸管内にガスが充滿し、膨化することより細菌自身による毒物例えばenterotoxine等の生理作用等も考えられる。

本實驗を遂行するに當り試驗動物の提供に御便宜を賜つた予防衛生研究所遠山祐三博士に感謝の意を表する。

文　　献

(1) 宮木、林：千葉大學腐敗研究所報告、第2卷、P.31（昭24）
(2) 和田、富士川：日水誌、Vol. 17, No. 4, P. 12（1951）
(3) 宮木：私信
(4) 山田：國民衛生、Vol. 2. No. 2. P. 1（大14）
(5) 谷川、元廣：北海道大學水產學部研究彙報 Vol. 3 No. 2
(6) Clough: Pub. Puget. sd. Biol. Sta. 3 (1922) 195
(7) 五十嵐：魚のブトマインについて P. 11（昭24）
(8) 高瀨：化學構造と生理作用 P. 610
(9) L. V, Udrànski u. E. Baumann: Zeit. f. physial. chem. 15, 77. (1891)
(10) L. Hess, H. müller: Zeit. f. exp. path. u. Therāp, 17. 59. (1914)
(11) Behring: Deut. med. Woch, 14. 477. (1888)
(12) J. Pohl: Arch. f. exp. Path. u. pharm. 41. 97. (1898)
(13) L. V. Udrànski u. E. Baumann: Zeit. f. physiol. chem. 15, 77, (1891).
(14) L. Dreyfus: Compt. reud. de. lu. Soe. biol. 83. 481 (1920)
(15) Fran . Nothmann. u. Wagner: Arch. f. exp, path, u. pharm. 53 (1926)
(16) 矢內：Tohoku journ, of exp. med. 25. 385 (1935)
(17) L. Brieger : Zeit. f. physiol. chem, 4, 414 (1880)
(18) 高瀨：日新醫學 24, 780（昭10）
(19) Guggenheim. m.: Therap; monat, 26, 795.（1912）
(20) Jäger. F: münch med. Woch, 60. 1714. (1913)
(21) 秋葉：日本衛生化學會誌、8. 6. 434. (1936)

（水產科學研究所業績　第120號）

噴火灣に於ける定置網の研究（豫報）

—主として急潮に依る漁網の被害について—

川崎 毅一・西山 作藏・中村 秀男（漁業學教室）

STUDIES ON THE FIXED NETS IN FUNKA-BAY (*Preliminary Report*). MAINLY ON THE DAMAGE BY THE IMMERSE-CURRENT.

Giichi KAWASAKI, Sakuzo NISHIYAMA and Hideo NAKAMURA.

(Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

The materials used in construction of the fixed nets in Funka-Bay are more durable to the usual currents of those sea districts than necessary condition. However they have been destroyed by the immerse-current of "Typhoon Katy" (1949).

The writers wish to find the suitable fixed nets which are durable for the immerse-current, not from the stregth of materials, but from the planning of the construction and the method of fixing.

Here, the writers have inquired first into the damage of fixed nets in Funka-Bay by the immerse-current of "Typhoon Katy".

1. 緒　　言

最近噴火灣漁場に於ける各種の漁業は全く不振の狀態である。之に伴い漁具用諸資材に對する吟味若くは節約という問題が大きく取上げられて來ている。

然るに現在まで唯經驗的に墨守され來つた方法をいま如何ように改良すべきかの問題の解答については何等の根據をも提供し得るものがない。

殊に從來此の海區に敷設されている定置網は相當强力な構成がなされており海況に對して必要以上と思料される資材が使用されている點も少くはない。

破損の防止を目的として斯る構成がなされるとしても曾つてのキテイ颱風（1949）に依る急潮に對しては其の悉くが甚大な被害を蒙つている。

本文は之等諸問題に關する一つの目安を得るため噴火灣に於ける定置網の構成及びキテイ颱風のもたらした急潮に依る被害の狀況を予備的に調査したものである。

2. 調査の方法

現在噴火灣に敷設される定置網（主として秋網）の構成及びキテイ颱風のもたらした急潮に依る定置網の被害について次に示す沿岸各漁業協同組合（虻田、豐浦、禮文、長万部、中の澤、國縫、黒岩、八雲、山越、落部、森、掛澗、砂原）單位に調査したものである。

Fig. 1　建込圖

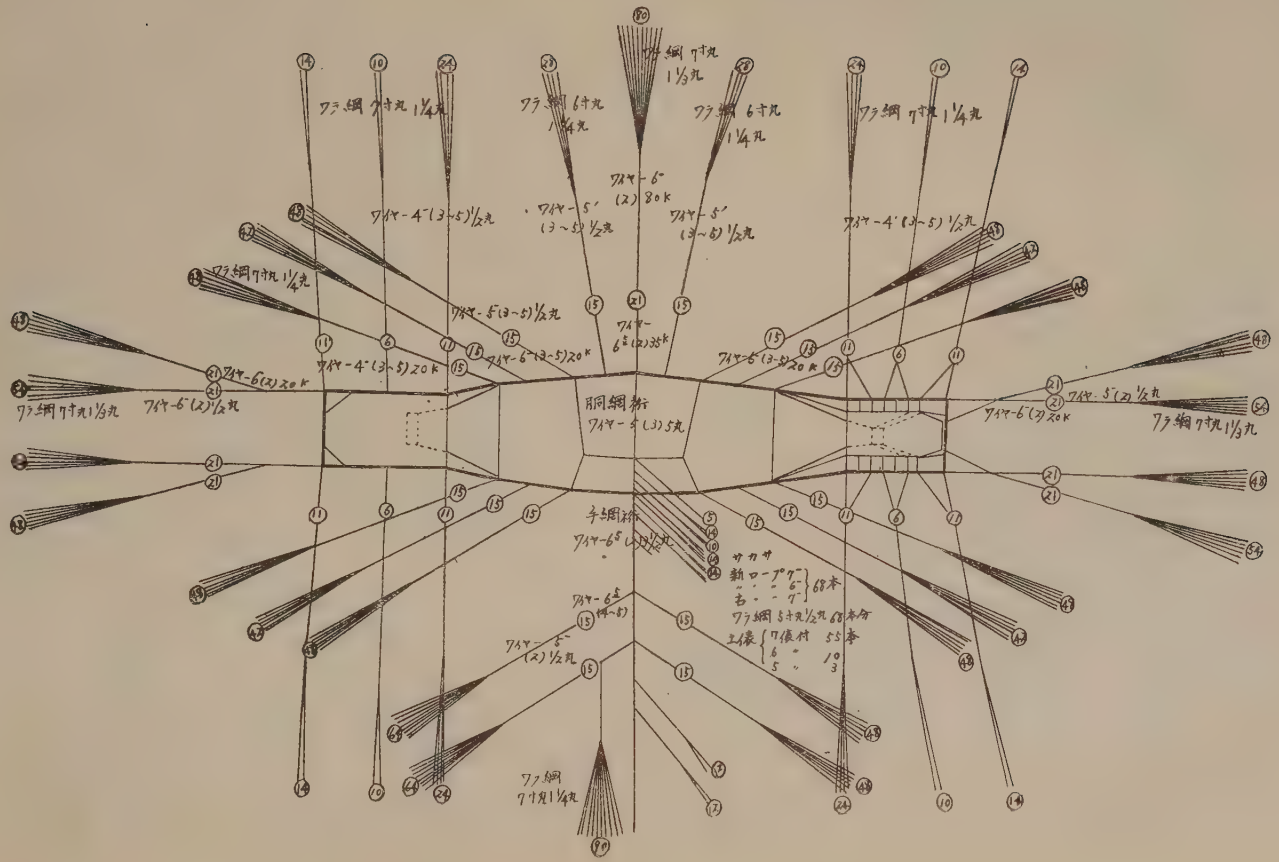
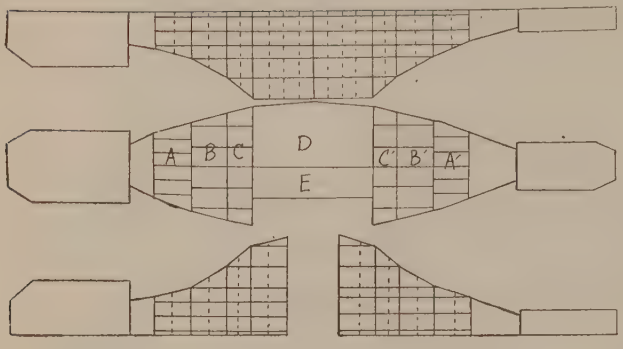

ワラ綱 7寸丸 1⅓丸
ワラ綱 7寸丸 1¼丸
ワイヤ-6'(2)80K
ワイヤ-5'(3~5)½丸
ワイヤ-5'(3~6)½丸
ワイヤ-4'(3~5)½丸
ワイヤ-5'(3~5)½丸
ワイヤ-6'(3~5)20K
ワイヤ-6'(2)35K
ワイヤ-4'(3~5)20K
ワイヤ-6'(2)20K
ワイヤ-6'(2)½丸
ワイヤ-5'(2)½丸
胴網部
ワイヤ-4'(3)5丸
手綱部
ワイヤ-6'(3)½丸
ワイヤ-6'(3~5)
ワイヤ-5'(2)½丸
サカサ
動ロープ 6' 68本
右 〃 7'
ワラ綱 5寸½丸 68本分
上縁 ワイヤ付 55本
6 〃 10
5 〃 3

Fig 2. 展開図

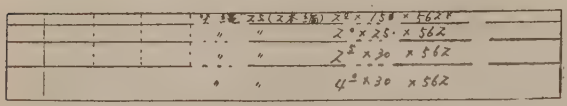
（囲網及び垣網）



中側

竪綱 3′	1°	×15目	×176ᴷ 7-11
〃 $2^{\frac{1}{2}}$	$1^{\frac{1}{2}}$	×35	×176
〃 〃	$1^{\frac{1}{2}}$	×35	×176
〃 〃	$1^{\frac{1}{2}}$	×30	×176
〃 〃	2°	×30	×135
〃 〃	3°	×20	× 95

A	竪綱 $2^{\frac{1}{2}}$	$1^{\frac{1}{2}}$	×30目×21ᴷ
A′	〃 〃	$1^{\frac{1}{2}}$	× 30 × 22
B	〃 〃	2°	× 30 × 23
B′	〃 〃	2°	× 30 × 17
C	〃 〃	3°	× 30 × 18
C′	〃 〃	3°	× 30 × 18
D	〃	5°	× 30 × 60
E	〃	5°	× 30 × 60



立側（障子網を含む）

竪綱 3′	1°	×15目	× 149ᴷ
〃 $2^{\frac{1}{2}}$	$1^{\frac{1}{2}}$	× 35	× 149
〃 〃	$1^{\frac{1}{2}}$	× 35	× 149
〃 〃	$1^{\frac{1}{2}}$	× 30	× 149
〃 〃	2°	× 30	× 108
〃 〃	3°	× 20	× 68

Fig 3. 溜網部

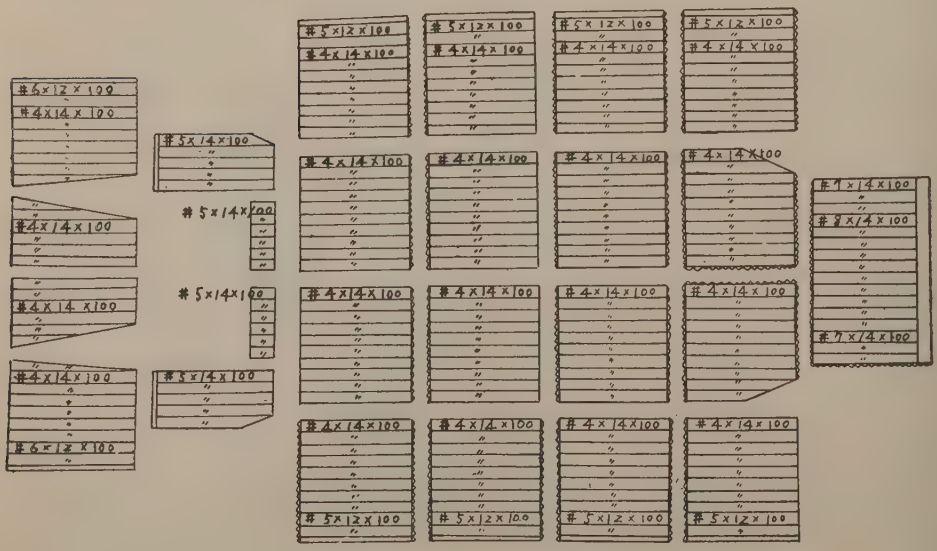


Fig 4　定置網の建込統数と被害の状況

Fig 5. 森町沖合に於ける被害の状況

3. 定置網の概要

噴火灣に於ける定置網は分類的には台網類に屬する直行網と落網の二種に大別されるが所謂秋網と稱し主として急潮發生時期に建込まれるものは悉く落網類である。

其の規模は網代水深に依り或いは設計者に依り多様であるが規模の大小に依り其の構成及び固定の方法を異にしている。

Fig. 1 に示すものは調査せしものゝ中では大型のものではあるが使用資材の履歴が比較的明確であり且他の多くのものゝ代表値とも思料されるので掲げることにした。

註(i) ワイヤー6-(2)80k; ワイヤーロープ徑6分、使用年數2年、所要間數80間の意味である。

(ii)80: 先端にあるは各碇網の土俵總數を示し中間にあるは浮子用硝子玉の總數を示したものである。

4. 被害の概要

噴火灣に於ける定置網の被害は主として急潮に起因するもので漁期中屢々見受けられる波浪其の他に依るものに比して極めて甚大である。曾つてのキテイ颱風のもたらした急潮に對しては當時建込まれていた定置網は殆ど被害の對象となつている。

第4圖は噴火灣沿岸に於ける建込統數と被害の狀況を圖示したのである。

第5圖は森町沖合に於ける被害の狀況で之を網代水深及び沖出間數別に分類したものが第1～2表である。

Table 1. 沖出間數より見た被害狀況

沖出間數	建込統數	被害狀況 全破損	大破損	中破損	小破損
100 – 500	25(統)	0(統)	9(統)	11(統)	5(統)
500 – 1,000	22	4	11	4	3
1,000 – 1,500	19	6	7	6	0
1,500 - 2,000	9	3	2	4	0
2,000 – 2,500	3	2	0	1	0
2,500 - 3,000	2	1	1	0	0
3,000 –	2	1	1	0	0
計	80	17	31	26	8

Table 2. 網代水深より見た被害狀況

網代水深	建込統數	被害狀況 全破損	大破損	中破損	小破損
10以下(尋)	1(統)	0(統)	1(統)	0(統)	0(統)
10 – 15	10	0	3	6	1
15 – 20	26	3	11	1	5
20 25	9	0	4	4	1
25 – 30	13	5	2	5	1
30 - 35	3	0	0	3	0
35 – 40	13	4	3	6	0
40 - 45	7	4	3	1	0
45 – 50	2	0	2	0	0
50—	1	1	0	0	0
計	80	17	29	26	8

註　全破損：漁網として再度使用出來ざるものにして全く流出し去るか、あるいは流出しないとしても漁業用資材の轉用不可能なる程度。
大破損：ほとんど全破損に類する程度にして、多少の漁業用資材の獲得がなし得られた程度。
中破損：主として網部の被害甚大にして資材の充愼により再度漁網とし繼續し得る程度。
小破損：被害としては極めて輕微にして、通常荒天時において屢々見受けられる網型、土俵の移動及び各部網部の小破裂等の程度。

尙地域的に急潮自體の强弱も考えられ、被害程度にも自ら差異があるものと思料されるが未だ之を確證づける段階には到つていない。

唯何れの地を問はず定置網の悉くが被害の對象となつておるに拘らず當時同じ海區に建込まれていた底建網は急潮に依る被害としては見るべきものがなく定置網の流失纏絡に依る被害の程度に過ぎなかつた。

5. 摘　　要

噴火灣に於ける潮流は 4—8 月は下り潮と稱し灣口より灣奥へ 9—3 月は上り潮と稱し前者に相反した流れとなるのが大體の傾向のようである。

夏季中即ち下り潮に依り操業上困難を來す事は屢々であるが之に依り被害を蒙むる事は先づあり得ないと言われている。

上記に反し秋季即ち上り潮に依るものは熾烈を極め所謂急潮も主として此の時期に發生するものである。

從來此の海區に敷設されている定置網の構成及び固定の狀態は觀測經過に徵して必要以上と思料される節が少くはない。破損の防止を目的として斯る構成がなされるとしても曾つてのキテイ颱風に依る急潮に對してはその悉くは甚大な被害を蒙つている。

斯樣に破損の防止を目的とし急潮にも對峙し得る定置網の設計は單に構成諸材料を增强せしむる事に依り解決されるものではない。

寧ろ平常時に於ける定置網に對する潮流の抵抗を知り之に必要なる諸資材の吟味をなし時折見舞はれる急潮に對しては定置網自體の抵抗を減少せしめ得る他の方法を考究せねばならない。

亦急潮に對して定置網は斯る甚大なる被害を蒙つておるに拘らず當時同海區に建込まれていた底建網には見るべき被害はなく唯流失漁網の纏絡等に依り一部被害を蒙つたに過ぎない。此の事實は定置網の設計上大きな示唆を與えていると考えられる。

6. 結　　言

急潮に依る定置網の流失防止は單に使用諸資材の張力を增强することに依り達成されるもので

はない。寧ろ此の海區に必要なる固定の方法を見出して資材の節約を圖り一方急潮に對しては自動安全辨となり得る機構を考究しなければならない。

筆者等はさきに電氣隔測張力計を試作し定置網の受ける抵抗の度合を調査すべく觀測を繼續している。

一方使用される各種資材の使用限度及び張力の減衰傾向についても實驗を進めている。

最後に本研究の實施に當り御協力を賜つた西川千代三氏及び各地漁業協同組合竝びに終始御助言を戴いた本學の井上直一教授に對し厚く感謝の意を表する。

7. 文　　献

竹内能忠：噴火灣に於ける急潮に關する研究、北水試月報、第7卷、第6號、昭和25年6月

（水產科學研究所業績　第118號）

昭和二十七年八月一日印刷
昭和二十七年八月十五日發行

函館市港町二五三番地
北海道大學水產學部
編輯人 谷川英一

札幌市南一條西七丁目
印刷所 文昭堂印刷所
電話(2)—三、二八五番
(3)—一、六八九番

札幌市南一條西七丁目
印刷人 井上三郎

發行所 北海道大學水產學部

BULLETIN
OF THE
FACULTY OF FISHERIES
HOKKAIDO UNIVERSITY

VOL. 3, NO. 2

CONTENTS

Studies on the Acid-Producing Fermentation of Seaweeds.
I. Determination of the Acid and Accuracy of the Experiment.
..... Noboru SUZUKI (114)

IV. The Fermentation of Various Seaweeds.
..... Noboru SUZUKI (118)

Chemical Studies on Marine Deposits.
VI. On the Organic Constituents of Marine Humus of Shallow-Water Deposits.
.....Kenji KATO (121)

Fundamental Examination for Studing Fish Meat.
Part II. A New Method for Estimating the Putrefaction of Fish Meat.
..... Kiichi MURATA and Keiichi OHOISHI (128)

Studies on Food Poisoning of Mollusc Especially of Squid and Octopus Meat.
I. Chemical Change and Freshness Tests of Squid and Octopus Meat during Deterioration of their Freshness.
.....Terushige MOTOHIRO and Eiichi TANIKAWA (142)

II. Prosperity and Decline of Amines during Putrefaction of Squid Meat.
.....Terushige MOTOHIRO and Eiichi TANIKAWA (154)

Studies on the Fixed Nets in Funka-Bay (Preliminary Report)
Mainly on the Damage by the Immerse-Current.
.....Giichi KAWASAKI, Sakuzo NISHIYAMA and Hideo NAKAMURA (175)